UNED

Química Bioorgánica y Productos Naturales

Rosa M.ª Claramunt Vallespí
M.ª de los Ángeles Farrán Morales
Concepción López García
Marta Pérez Torralba
Dolores Santa María Gutiérrez

Química Bioorgánica y Productos Naturales

ROSA M.ª CLARAMUNT VALLESPÍ
M.ª DE LOS ÁNGELES FARRÁN MORALES
CONCEPCIÓN LÓPEZ GARCÍA
MARTA PÉREZ TORRALBA
DOLORES SANTA MARÍA GUTIÉRREZ

UNIVERSIDAD NACIONAL DE EDUCACIÓN A DISTANCIA

QUÍMICA BIOORGÁNICA Y PRODUCTOS NATURALES

www.uned.es/publicaciones

ISBN electrónico: 978-84-362-6794-5

Edición digital: octubre de 2013

Rosa M.ª Claramunt Vallespí es doctora en Ciencias Químicas por las Universidades de Barcelona y Montpellier. Catedrática de química orgánica en la UNED desde 1986, su labor docente e investigadora en centros nacionales y extranjeros se ha desarrollado en diferentes áreas de la química. Autora de varios textos educativos y de divulgación científica, los resultados de sus investigaciones han sido publicados en revistas de alto índice de impacto.

M.ª de los Ángeles Farrán Morales es licenciada en Ciencias Químicas por la Universidad Complutense de Madrid, máster en Química por la Universidad de Aberdeen y doctora en Ciencias Químicas por la Universidad de Bowling Green (Estados Unidos). Ha realizado estancias posdoctorales de investigación en Holanda, Inglaterra, Italia y Japón. Desde el año 2009, es profesora de la UNED. Imparte docencia en asignaturas regladas de licenciatura, máster y doctorado en el Departamento de Química Orgánica y Bio-Orgánica. Además de su labor docente realiza también una labor investigadora en el campo de la química orgánica.

Concepción López García es licenciada en Ciencias Químicas por la Universidad Autónoma de Madrid y doctora en Ciencias Químicas por la UNED. Catedrática de química orgánica en la UNED, es autora de varios capítulos de libros y monografías docentes, varios de ellos premiados por el Consejo Social de la UNED. Desarrolla su labor investigadora en el Grupo Consolidado de la UNED, *Sistemas Supramoleculares Bio-Orgánicos*, e imparte su docencia en la Facultad de Ciencias de la UNED, en las titulaciones de Químicas y de Ciencias Ambientales, así como en el Máster Universitario de Ciencia y Tecnología Química.

Marta Pérez Torralba es licenciada en Ciencias Químicas por la Universidad de Alcalá de Henares y doctora en Ciencias Químicas por la UNED. Es profesora del área de química orgánica en la UNED y autora de textos y materiales didácticos específicos de la enseñanza a distancia. Asimismo, ha sido profesora tutora durante varios años en el Centro Asociado de Madrid (UNED). Su labor investigadora la ha desarrollado en el Instituto de Química Orgánica (CSIC), en la UNED, en la Universidad de Alcalá de Henares y en la Universidad de Viena (Austria).

Dolores Santa María Gutiérrez es licenciada con grado en Ciencias Químicas por la Universidad Complutense de Madrid y doctora en Ciencias Químicas por la UNED. En la actualidad es profesora titular de Universidad en la UNED en el área de química orgánica. Es coautora de diversos textos editados por la UNED relacionados con la química orgánica y con la metodología a distancia. Su actividad investigadora se desarrolla en los campos de la química heterocíclica, interacciones no covalentes, enlaces de hidrógeno y RMN en disolución y estado sólido. Su investigación ha dado lugar a publicaciones en revistas y comunicaciones en congresos de prestigio internacional.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

PRESENTACIÓN

El texto *Química Bioorgánica y Productos Naturales* constituye el material básico para el estudio de la asignatura del mismo nombre, que pertenece a la materia química orgánica del título de Grado en Química y se integra en el módulo de materias fundamentales de carácter obligatorio. Su objetivo general consiste en el estudio de las moléculas y las reacciones químicas que ocurren en los organismos vivos, de importancia fundamental para la comprensión del funcionamiento de estos últimos.

Se ha desarrollado el programa de la asignatura *Química Bioorgánica y Productos Naturales,* de 5 créditos ECTS, organizándolo en dos Unidades Didácticas, cada una de las cuales incluye cinco temas.

La primera Unidad Didáctica está directamente relacionada con la *Química Bioorgánica.* En los tema 1 y 2 se introducen una serie de conceptos de gran importancia para el entendimiento del nivel supramolecular, así como los diferentes tipos de interacciones moleculares no-covalentes, procediendo a continuación a relacionar mediante ejemplos los diferentes tipos de entidades supramoleculares, bien sea naturales o artificiales. Las enzimas y los cofactores se presentan en los temas 3 y 4 para analizar finalmente los mecanismos de mayor relevancia en química bioorgánica en el tema 5.

En la segunda Unidad Didáctica se lleva a cabo el estudio de los *Productos Naturales* que se presentan de acuerdo con su origen biogenético como metabolitos secundarios. En el tema 6 se procede a su definición y al estudio de su origen y tipos de clasificación, para a continuación abordar los originados mediante la via del acetato en el tema 7, la vía del mevalonato en el tema 8 y la vía del ácido shikimico en el tema 9. El tema 10 está dedicado a los alcaloides como metabolitos derivados de aminoácidos.

En cuanto a la estructura de cada tema, se han incluido diferentes epígrafes que, además, son comunes a todos ellos: sumario, objetivos, conceptos clave introducidos en el tema, ejercicios de autocomprobación y soluciones a los ejercicios de autocomprobación.

El uso del color como complemento didáctico para el estudio es una herramienta muy valorada y se ha comprobado su utilidad en la comprensión de los contenidos. El color se ha aplicado con diferentes significados.

En los mecanismos de reacción se ha empleado para destacar la reactividad de las diferentes entidades: nucleófilos (en rojo), electrófilos (en azul), radicales y grupos salientes (en verde). En muchos casos, cuando en un mecanismo de reacción, el átomo o grupos atómicos cambian de reactividad de una etapa a otra, los colores se han ido sustituyendo en cada momento para indicar la reactividad del centro activo.

En otras ocasiones se ha recurrido al color para destacar los heteroátomos en una molécula o para diferenciar un grupo molecular de otro.

Finalmente, en los cuatro últimos temas relativos a los metabolitos secundarios, el color se ha utilizado como base en la estructura del metabolito: dobles y triples enlaces en rojo en los ácidos grasos del tema 7; unidades de isopreno en azul, en los terpenos del tema 8; la estructura que proviene del ácido cinámico en azul, en el tema 9 de la vía del ácido shikímico; y en el tema 10 se ha dibujado en azul la estructura del alcaloide que hace referencia al aminoácido del que proviene.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACP	enzima transportadora de acilo
ADN	ácido desoxirribonucleico
ADP	difosfato de adenosina
AMP	monofosfato de adenosina
ARN	ácido ribonucleico
ATP	trifosfato de adenosina
BH_2	dihidrobiopterina
BH_4	tetrahidrobiopterina
CoA	coenzima A
DAHP	3-desoxi-D-arabinoheptulosónico-7-fosfato
DMAPP	pirofosfato de dimetilalilo
DXP	1-desoxi-D-xilulosa-5-fosfato
E (o Enz)	enzima
EM	espectrometría de masas
ES	complejo enzima-sustrato
FAD	dinucleótido de flavina y adenina
$FADH_2$	dinucleótido de flavina y adenina (forma reducida)
FH_4	tetrahidrofolato
FMN	mononucleótido de flavina
$FMNH_2$	mononucleótido de flavina (forma reducida)
FPP	pirofosfato de farnesilo
G	*guest* (huésped)
GFPP	pirofosfato de geranilfarnesilo
GGPP	pirofosfato de geranilgeranilo
Glc	glucosa

GPP	pirofosfato de geranilo
H	*host* (anfitrión)
HG	complejo *host-guest*
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA
IPP	pirofosfato de isopentenilo
IR	espectroscopía de infrarrojo
LPP	pirofosfato de linalilo
LT	leucotrienos
MVA	ácido mevalónico
NAD^+	dinucleótido de nicotinamida y adenina
NADH	dinucleótido de nicotinamida y adenina (forma reducida)
$NADP^+$	dinucleótido de fosfato de nicotinamida y adenina
NADPH	dinucleótido de fosfato de nicotinamida y adenina (forma reducida)
NPP	pirofosfato de nerilo
PEP	fosfoenolpiruvato
PG	prostaglandinas
Phe	fenilalanina
PLP	fosfato de piridoxal
PMP	fosfato de piridoxamina
RMN	resonancia magnética nuclear
S	sustrato
SAH	*S*-adenosilhomocisteína
SAM	*S*-adenosilmetionina
TPP	pirofosfato de tiamina
Trp	triptófano
TX	tromboxano
Tyr	tirosina
UV	ultravioleta
W-M	Wagner-Meerwein

UNIDAD DIDÁCTICA I

Tema 1.

QUÍMICA BIOORGÁNICA Y EL NIVEL SUPRAMOLECULAR

Tema 2.

QUÍMICA SUPRAMOLECULAR. RECEPTORES. COMPUESTOS SUPRAMOLECULARES

Tema 3.

ENZIMAS EN QUÍMICA BIOORGÁNICA

Tema 4.

COFACTORES. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

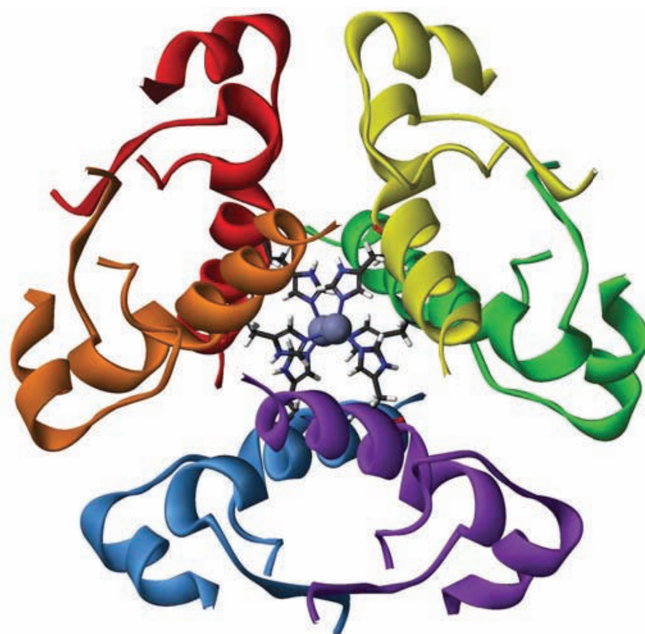
Tema 5.

PRINCIPALES MECANISMOS EN QUÍMICA BIOORGÁNICA

TEMA 1

QUÍMICA BIOORGÁNICA
Y EL NIVEL SUPRAMOLECULAR

Concepción López García



Imagen, generada por ordenador, de seis moléculas
de insulina unidas formando un hexámero.

SUMARIO

OBJETIVOS

General

Introducir la química bioorgánica como disciplina científica, sus orígenes y la naturaleza de las interacciones no-covalentes que gobiernan el nivel supramolecular.

Específicos

1. Ilustrar la importancia de los efectos de proximidad en química orgánica para construir modelos bioorgánicos sencillos.
2. Aplicar los conceptos de adaptación molecular: factores estéricos, biosostería, conformación, etc., presentes en los biomodelos.
3. Conocer el fenómeno de reconocimiento molecular y el modelo de la llave y la cerradura (*lock and key*).
4. Identificar los diferentes modelos bioorgánicos: receptor, transportador y catalizador y los procesos en los que intervienen.
5. Clasificar las interacciones no-covalentes. Conocer su fuerza y evaluar su importancia en la construcción de las supramoléculas.

1.1. INTRODUCCIÓN

La química bioorgánica es una disciplina científica de gran interés, tanto práctico como fundamental, es un área en expansión que integra la química orgánica y la bioquímica. Y en otros muchos casos, como en los que están implicados metaloenzimas y cofactores, se solapa con la química bioinorgánica. La química física y la metodología analítica aportan también detalles de los mecanismos de reacción y medidas cuantitativas. Incluso el término compuesto, química orgánica biofísica, se utiliza con frecuencia como un descriptor relevante en el reconocimiento molecular. En cualquier caso, como ocurre con muchas otras áreas de la ciencia, no es fácil establecer límites entre disciplinas fuertemente correlacionadas.

La química bioorgánica consiste en el estudio de las moléculas y de las reacciones químicas que se llevan a cabo en los organismos vivos. El estudio y entendimiento de estas reacciones es fundamental para comprender el funcionamiento de los seres vivos (microorganismos, vegetales y animales) en base a las transformaciones que experimentan las biomoléculas. La búsqueda de la base química y también física de los complejos fenómenos de la vida, ha supuesto para la biología una profunda transformación. Actualmente, los fenómenos biológicos se consideran como un conjunto ordenado y muy complejo de reacciones químicas que, como tales, siguen las leyes establecidas de la química, lo que permitirá predecir o modificar el comportamiento de estos sistemas. El conocimiento y la creatividad de los químicos pueden servir para resolver problemas biológicos fundamentales para el desarrollo futuro del conocimiento, con un gran impacto en la investigación en agricultura (insecticidas), biotecnología, ingeniería genética y biomedicina.

La química bioorgánica tiene múltiples orígenes así, por ejemplo, en el campo de la nutrición, identifica factores esenciales en la dieta humana, sus estructuras y síntesis nos llevan a reconocer los modos de acción de las

vitaminas y cofactores relacionados. El estudio de las hormonas, los conceptos de la biogénesis de los productos naturales, la utilización de las enzimas, el reconocimiento molecular, etc. Todas estas áreas de investigación han jugado y continúan jugando un papel importante en el desarrollo de esta disciplina.

La química orgánica se definía como la química que podía realizarse solo por los organismos vivos; pero con la demostración de Friedrich Wöhler, en 1828, que sintetizó urea en el laboratorio, la definición dejó de ser válida y pasó a ser simplemente la química de los compuestos de carbono, un enorme campo que contiene casi todos los procesos químicos de la vida, así como la química orgánica creada en el laboratorio.

Entre los primeros investigadores que desarrollaron investigación en química orgánica bioorientada, se encuentran los doctores Frank Henry Westheimer y Bernhard Witkop (Figura 1.1).



Figura 1.1. Dres. Frank Henry Westheimer y Bernhard Witkop

F. H. Westheimer llevó a cabo estudios rigurosos de las reacciones bioquímicas. En una comunicación presentada en el año 1951, informó de la transferencia directa de hidrógeno como hidruro, a través de experimentos realizados en la oxidación de 1,1-dideuteroetanol. Este compuesto es oxidado enzimáticamente por el NAD^+ (Figura 1.2). Los productos resultantes, acetaldehído deuterado y NAD-D contienen cada uno, un átomo de deuterio por molécula, lo que demuestra que el nuevo átomo de hidrógeno (en este caso deuterio) se transfiere *directamente* desde el grupo metileno del alcohol.

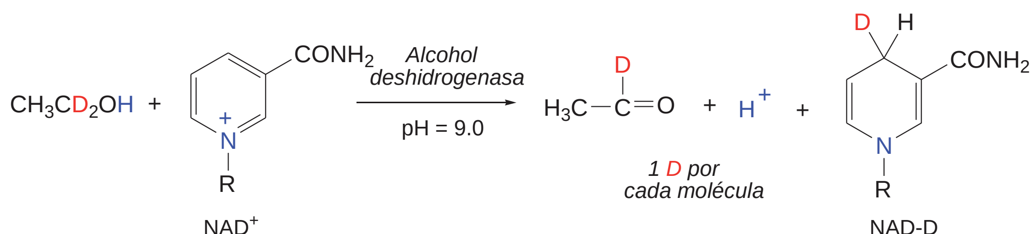


Figura 1.2. Transferencia enzimática de deuterio

Esta sencilla reacción, junto con trabajos posteriores llevados a cabo por Westheimer y su grupo, acerca de la velocidad, de la estereoquímica, etc., demostraron lo que hoy en día definimos como *enantioespecificidad*.

Los trabajos pioneros de B. Witkop, en 1968, al estudiar la reacción del bromuro de cianógeno (Figura 1.3) con péptidos, pusieron de manifiesto la participación de los grupos vecinos en el resultado de la reacción, y sus estudios fueron clave para conocer la secuencia correcta de los fragmentos de aminoácidos y proteínas, así como para su producción y para el desarrollo posterior de muchas terapias y de la ingeniería genética.

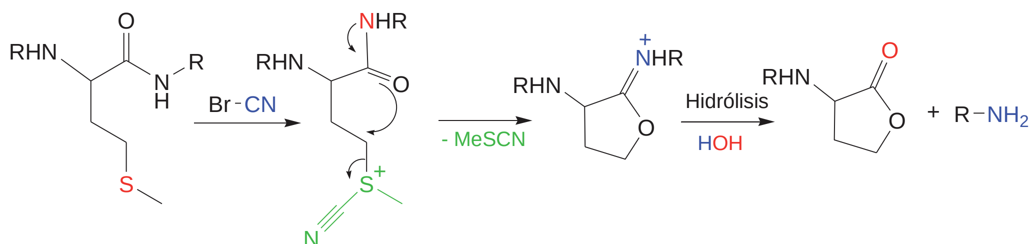


Figura 1.3. Participación de un grupo vecino en la hidrólisis de un enlace péptídico

Los dos ejemplos mostrados ponen de manifiesto como el entendimiento de reacciones sencillas ha supuesto un gran avance en la química bioorgánica. Construir biomodelos o modelos orgánicos sencillos en el laboratorio, permite estudiar algunos de los parámetros de un proceso biológico complejo. Todos los procesos de la vida requieren energía que se obtiene realizando reacciones químicas dentro de las células. De este modo, se han llevado a cabo reacciones que imitan la especificidad y eficiencia de las enzimas, se estudian compuestos transportadores de iones para conocer cómo trabaja una membrana biológica, etc.

Otro aspecto relevante y esencial en la organización en toda forma de vida es *la quiralidad*. Muchas moléculas biológicamente activas son quirales: la mayoría de los aminoácidos son L y los azúcares son D (Figura 1.4).

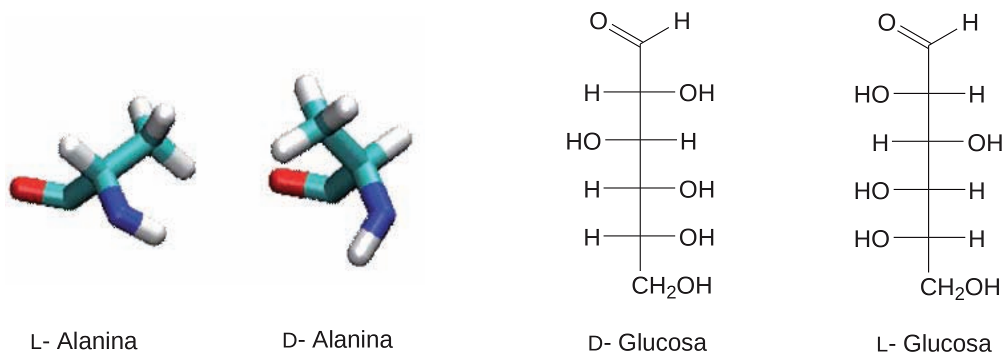


Figura 1.4. Enantiómeros de la alanina y de la glucosa

El origen de esta homoquiralidad en la vida en la Tierra, ha sido y es objeto de debate. Existe una gran variedad de hipótesis y opiniones en muchos sectores de la sociedad. Hablar de homoquiralidad es sinónimo del planteamiento del origen de la vida.

1.2. EFECTOS DE PROXIMIDAD EN QUÍMICA ORGÁNICA

La proximidad de grupos reactivos en una transformación química permite la polarización de los enlaces, lo que conduce generalmente a un incremento en la velocidad de reacción. En la naturaleza esto se consigue, en muchos casos, mediante un correcto alineamiento de las cadenas laterales de los aminoácidos en los sitios activos de una enzima (ver Tema 3).

El estudio de las reacciones orgánicas ayuda a construir modelos adecuados de las reacciones enzimáticas. En una molécula, susceptible de experimentar sustitución nucleófila y que, adicionalmente, posee un sustituyente de carácter nucleófilo, es frecuente observar que tanto la cinética como la estereoquímica se vean fuertemente afectadas. El grupo con un par de electrones no compartidos en posición β respecto del grupo saliente (e incluso en posiciones más lejanas), coopera asistiendo a la salida del nucleófugo (Figura 1.5). A esta participación del grupo vecino se denomina *asistencia anquimérica*.

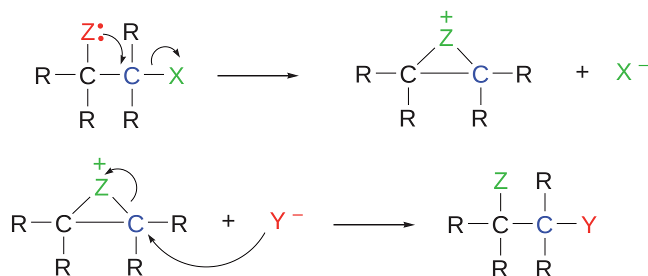


Figura 1.5. Asistencia anquimérica

Dentro de las reacciones orgánicas se encuentran muchos ejemplos que ilustran la importancia de este principio y se irán viendo a los largo de los temas que componen esta asignatura. En este apartado solo se muestran algunos ejemplos representativos.

Hidrólisis asistida

El *o*-carboxi-fenil-β-D-glucósido se hidroliza a una velocidad 10^4 veces superior que su correspondiente derivado *p*-carboxifenilo. Esto es un efecto de proximidad y muestra la participación en la hidrólisis del grupo carboxílico en la posición *orto* (Figura 1.6). Este tipo de reacciones se conoce como hidrólisis asistida. La posición adecuada de un grupo (electrófilo o nucleófilo) puede acelerar la velocidad de reacción.

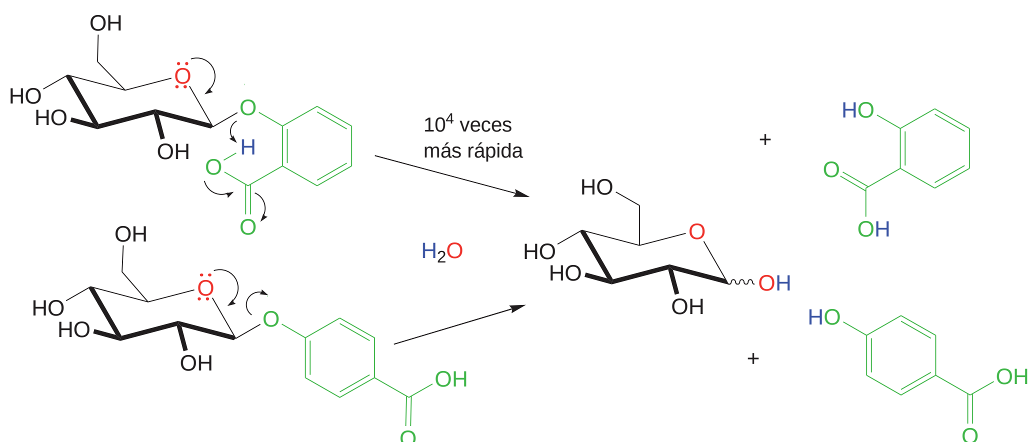


Figura 1.6. Hidrólisis asistida de un enlace glicosídico

Catálisis bifuncional

El ácido 2,2´-tolandicarboxílico en etanol, reacciona 10^4 veces más rápido que el correspondiente ácido 2-tolancarboxílico o 2,4´-tolandicarboxílico. Uno de los grupos carboxilo actúa como catalizador ácido general por un mecanismo conocido como catálisis complementaria bifuncional (Figura 1.7).

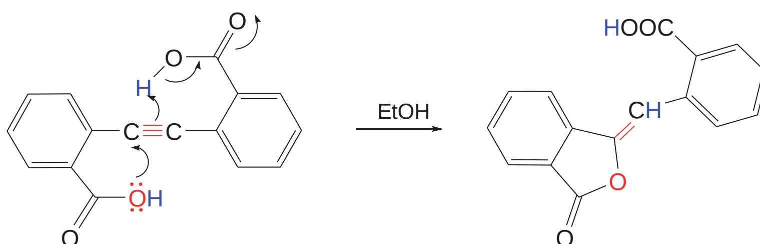


Figura 1.7. Catálisis bifuncional

Importancia de una estructura rígida

La velocidad de solvolisis de los acetatos, representados en la Figura 1.8, en CH_3OH/Et_3N, muestra una acentuada preferencia por la molécula que tiene un grupo OH en el carbono 5, donde la velocidad es 300 veces mayor.

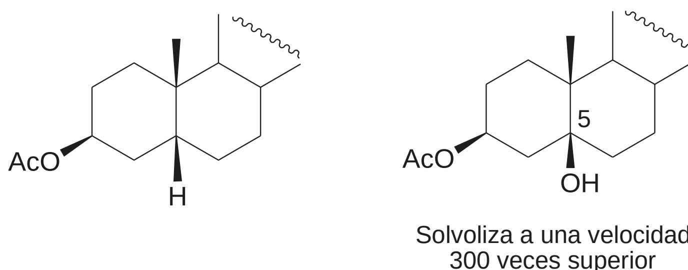


Figura 1.8. Dos acetatos esteroideos con diferente velodidad de solvolisis

La explicación a este hecho es que la rigidez del esqueleto del esteroide facilita la orientación apropiada para que ocurra una catálisis intra- e intermolecular. El grupo OH coopera en la reacción mediante la formación de un enlace de hidrógeno. La función carbonilo del éster es ahora mejor centro electrófilo para las moléculas de disolvente (Figura 1.9)

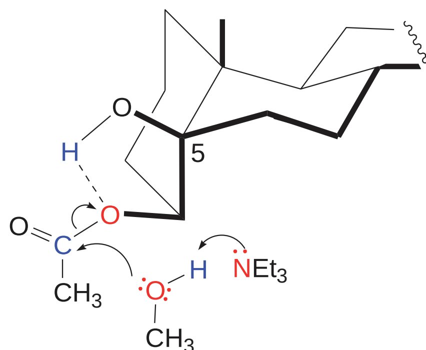


Figura 1.9. Mecanismo de la catálisis ácido-base general en la solvolisis de un éster

Los ejemplos anteriores ponen de manifiesto que muchos de los sitios químicamente activos de las enzimas pueden ser reproducidos con modelos orgánicos sencillos y en ausencia de proteínas.

1.3. ADAPTACIÓN MOLECULAR

Además de los efectos de proximidad vistos anteriormente hay otros factores importantes que deben considerarse en el diseño de los sistemas bioorgánicos.

Ya en el año 1950, Harris L. Friedman introdujo el concepto de *bioisostería* como el fenómeno por el que dos compuestos de estructuras relacionadas presentan el mismo tipo de actividad biológica. En la definición original de Irving Langmuir, en 1919, el término *isostería* se utilizaba para describir la semejanza en propiedades físicas y químicas que presentan una serie de iones y moléculas que contienen el mismo número de átomos y electrones de valencia, como por ejemplo el nitrógeno y el monóxido de carbono. Cuando se añaden criterios de geometría, solubilidad, acidez, reactividad química, etc. el concepto se amplia y se habla de *isostería no clásica*. Según la definición dada por Alfred Burger, en 1991, los grupos *bioisósteros* son grupos o compuestos que poseen formas y volúmenes similares, que tienen una distribución electrónica parecida, y que exhiben propiedades físico-químicas comparables. Este concepto tiene importantes aplicaciones en farmacología especialmente en el diseño de nuevos fármacos a través del método de variación o modificación molecular. Introducir átomos de halógeno en una molécula, cambiar un grupo CH_2 por un oxígeno, un grupo metilo por un átomo

de cloro, conduce a menudo a propiedades interesantes. Son varias las razones para utilizar esta estrategia en el diseño de nuevos compuestos: mejorar la actividad farmacológica, aumentar la selectividad para un determinado receptor, reducir los efectos secundarios, simplificar la síntesis, disminuir la toxicidad o incluso optimizar la farmacocinética. En la Figura 1.10 se muestran algunos ejemplos de fármacos bioisósteros.

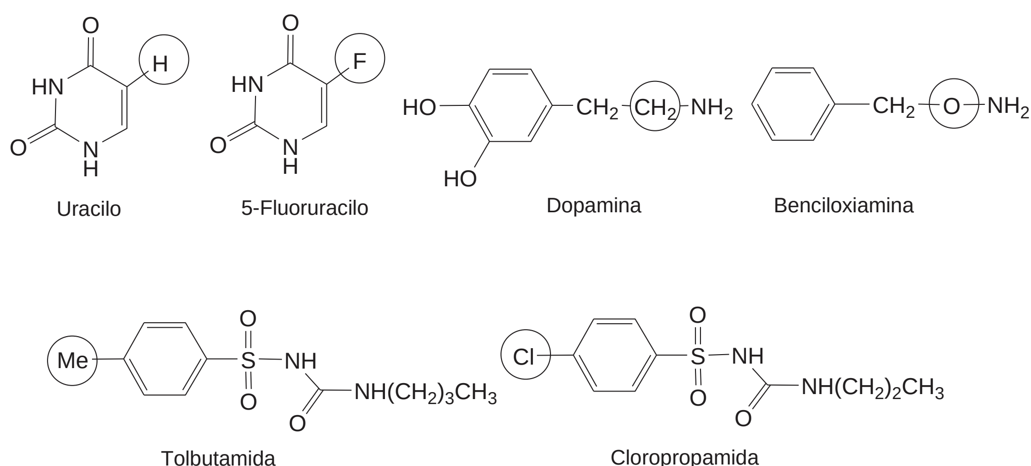


Figura 1.10. Algunos ejemplos de fármacos bioisósteros

Otro factor decisivo para el diseño de los biomodelos es la conformación. Un ejemplo lo encontramos en la tiroxina, esta hormona regula la velocidad del proceso oxidativo celular. La presencia de los cuatro átomos de yodo impide la libre rotación y fuerza a los anillos aromáticos a permanecer perpendiculares (Figura 1.11)

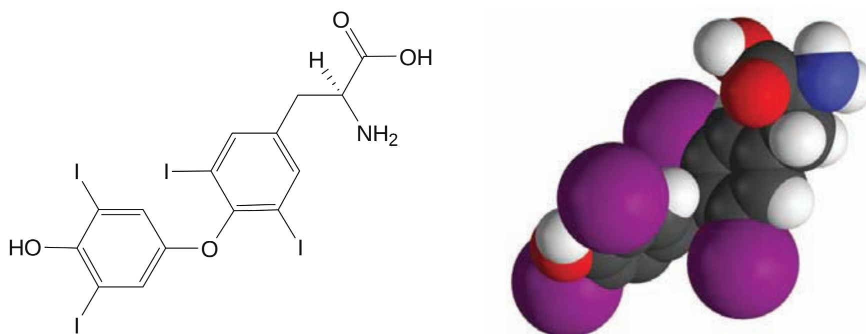


Figura 1.11. Tiroxina (fórmula química y estructura tridimensional)

También el tamaño y la forma de las cadenas laterales pueden influir en la actividad biológica de un sustrato. Un caso interesante es el de los compuestos antimaláricos derivados de la primaquina, un medicamento que se utiliza para el tratamiento del paludismo (Figura 1.12).

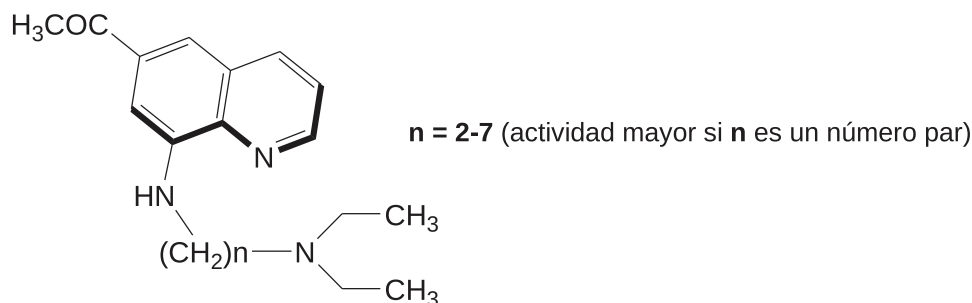


Figura 1.12. Análogos de la primaquina

Además de estos factores, estéricos y conformacionales, hay que tener en cuenta los efectos inductivos y de resonancia al construir un sistema bioorgánico que posea la propiedad buscada.

1.4. RECONOCIMIENTO MOLECULAR Y EL NIVEL SUPRAMOLECULAR

El reconocimiento molecular es el fenómeno mediante el cual una especie química es reconocida e identificada selectivamente por un receptor adecuado. Este mecanismo es el que logra, por ejemplo, que el sistema inmune identifique a los microorganismos o que una enzima actúe sobre un sustrato particular. Para funcionar como una máquina perfecta, nuestro cuerpo depende en última instancia, de la capacidad de cada pieza básica (molécula) de estar preparada para una función y lugar específicos; cada molécula tiene una composición y forma única que le permite interactuar con otras moléculas. Las interacciones entre moléculas permiten a los seres vivos, moverse, sentir, reproducirse y realizar los procesos por los que se mantienen vivos. La información se trasmite desde los primeros pasos: del nivel de la molécula aislada al nivel de las estructuras de complejidad y funcionalidad crecientes.

En 1894, Emil Fischer formuló la hipótesis de la llave y la cerradura (*lock and key*). Con base a sus resultados, dedujo que la especificidad

de una enzima (la cerradura) por un sustrato (la llave) surge de formas geométricas complementarias, es decir, sus estructuras encajan exactamente una en la otra (Figura 1.13). Sin embargo, si bien este modelo explica la especificidad de las enzimas, falla al intentar explicar la estabilización del estado de transición que logran adquirir las enzimas por lo que, como se verá en el Tema 3, hay otros factores que deben tenerse en cuenta.

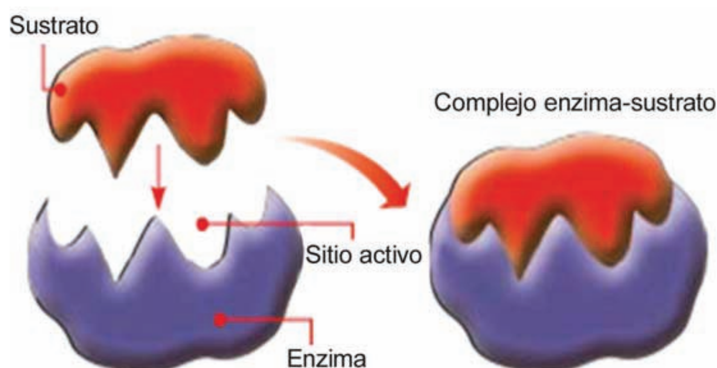


Figura 1.13. Modelo de llave y cerradura (Emil Fischer, 1894)

La estrategia general para construir un modelo bioorgánico, se resume en la Figura 1.14. Vemos cómo se utiliza la síntesis orgánica para construir un receptor específico, que sea capaz de interactuar con un determinado sustrato para formar la supramolécula (también se conoce como super-molécula).

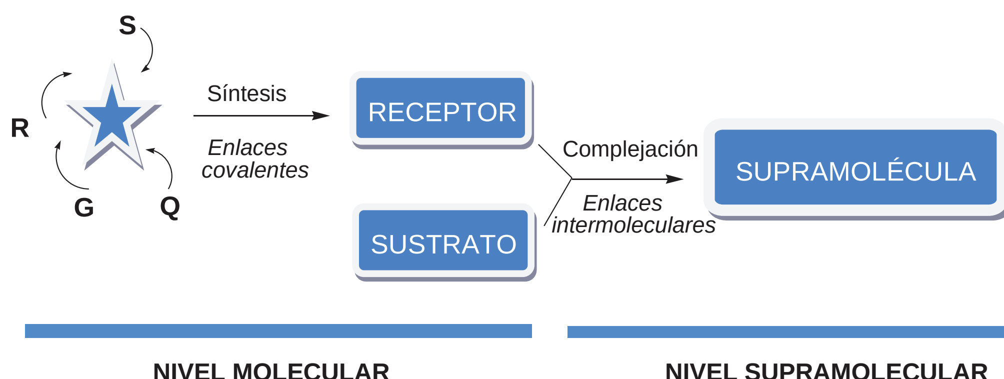


Figura 1.14. Desde los átomos a las moléculas y supramoléculas

En general, el fenómeno del reconocimiento molecular viene definido por la energía y la información involucradas en la asociación y selección de un sustrato y su receptor, y es algo más que la simple asociación de entidades químicas: implica la existencia de un conjunto bien definido de interacciones y requisitos espaciales entre ambas especies para cumplir un propósito determinado.

En particular, el reconocimiento molecular en el diseño de un receptor implica comprender muchas interacciones que tienen lugar en el nivel molecular, tales como: información estructural, funcional, adaptación, energía, complementariedad, etc. Esta química que va *más allá de la molécula* es de extraordinaria importancia en la aproximación biomimética.

Las supramoléculas se pueden agrupar en tres grandes áreas, cada una de las cuales está implicada en distintos procesos, tiene una función específica y debe responder a distintas necesidades (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Diferentes modelos bioorgánicos

	RECEPTOR	**TRANSPORTADOR**	**CATALIZADOR**
PROCESOS	Asociación	Asociación + desplazamiento	Asociación + transformación
FUNCIÓN	Reconocimiento	Liberación y transporte	Catalizador molecular
REQUISITOS	Alta estabilidad Alta selectividad Intercambio lento	Estabilidad Alta selectividad Intercambio rápido Flexibilidad, lipofília	Alta afinidad Alta selectividad Alta especificidad Reacción rápida

Cuando se comparan los biomodelos con los sistemas biológicos, los primeros tienen la ventaja de ser estructuralmente más sencillos y menos resistentes a las modificaciones químicas. La *química biomimética o química abiótica*, no se limita solo a imitar a los sistemas vivos, también puede crear nuevos tipos de estructuras, nuevos catalizadores, nuevos transportadores capaces de realizar funciones iguales o distintas que las que realizan los seres vivos y con eficiencia y selectividad comparables.

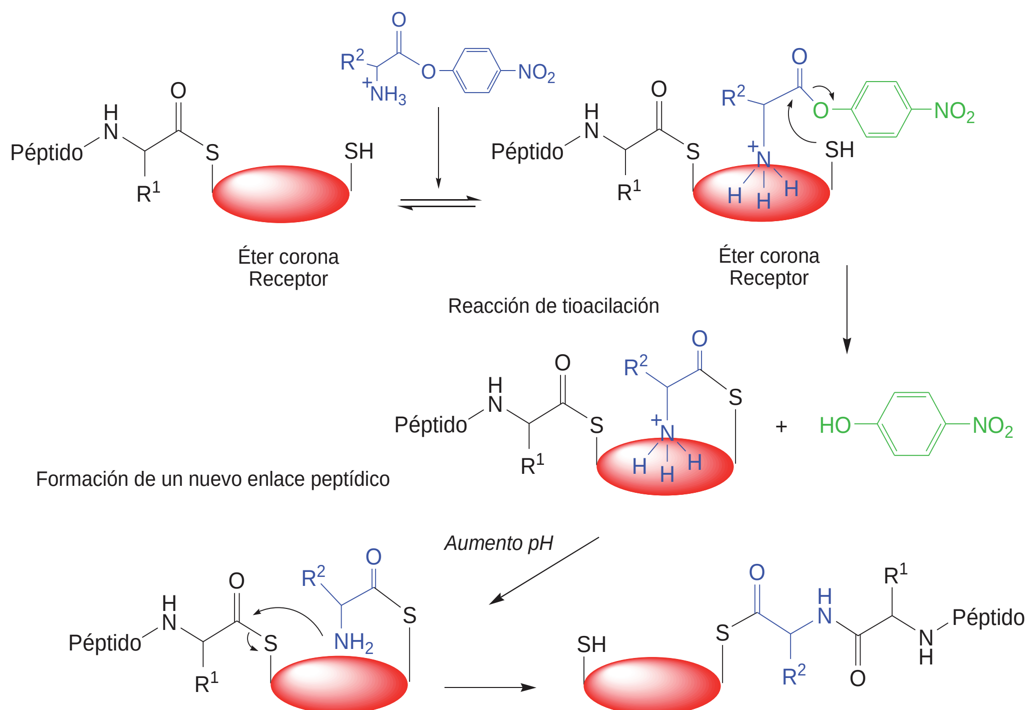


Figura 1.15. Síntesis de péptidos

Para ilustrar con un ejemplo lo mencionado anteriormente, efectos de proximidad y reconocimiento molecular, en la Figura 1.15 se muestra un esquema donde se utilizan éteres corona (se estudiarán en el Tema 2) adecuadamente modificados, como modelos enzimáticos para la síntesis de péptidos de cadena pequeña.

1.5. NATURALEZA DE LAS INTERACIONES MOLECULARES NO-COVALENTES

Las interacciones no-covalentes son considerablemente más débiles que las covalentes, pero cuando se utilizan de una manera cooperativa son capaces de formar entidades muy estables. El término no-covalente incluye un amplio intervalo de atracciones y repulsiones que se resumen en la Tabla 1.2 y que van a ser tratadas con más detalle en los siguientes subapartados.

Tabla 1.2. Resumen de las interacciones no-covalentes

Interacción	Fuerza (kJ mol^{-1})	Ejemplo
Ion-ion	200-300	Cloruro de tetrabutilamonio
Ion-dipolo	50-200	Sodio [15]corona-5
Dipolo-dipolo	5-50	Acetona
Enlace de hidrógeno	4-120	ADN/ARN
Catión π	5-80	K^+ en benceno
π – π	0-50	Benceno y grafito
van der Waals	< 5	Argon, empaquetamiento en los cristales moleculares
Hidrofóba	Energía de interacción disolvente-disolvente	Compuestos de inclusión de ciclodextrinas
Interacciones covalentes: desde 150 kJ mol^{-1} hasta 450 kJ mol^{-1} para enlaces sencillos		

1.5.1. Iónicas y dipolares

Estas interacciones electrostáticas pueden ser a su vez agrupadas en tres categorías: ion-ion, ion-dipolo y dipolo-dipolo. Están representadas por la ley de Coulomb y de un modo simplificado consisten en considerar cargas formales localizadas en los átomos. Estas cargas formales serán cargas netas cuando un determinado grupo esté ionizado, o formarán dipolos o multipolos, como consecuencia de desplazamientos de la densidad electrónica hacia los átomos más electronegativos. Como se recoge en la Tabla 1.2, la más fuerte de estas interacciones es la de ion-ion, con una fuerza comparable a las interacciones covalentes; son interacciones no direccionales, lo que significa que pueden ocurrir en cualquier orientación. Por el contrario, las interacciones ion-dipolo y dipolo-dipolo, dependen de la orientación y requieren que las dos entidades estén alineadas en una determinada dirección (Figura 1.16).

Estas interacciones juegan un papel muy importante para comprender los factores que influyen en las altas afinidades de enlace, en particular, en los sistemas biológicos en los que hay un elevado número de procesos de

reconocimiento que implican interacciones carga-carga; también son, en muchos casos, las interacciones más importantes entre un sustrato y una enzima (ver Tema 3).

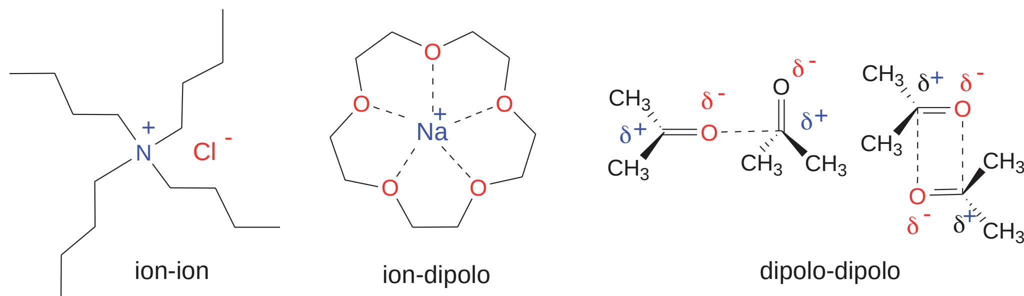


Figura 1.16. Ejemplos de interacciones electrostáticas

1.5.2. Enlace de hidrógeno

Es la interacción no-covalente más importante en el diseño de arquitecturas moleculares. Representa una clase especial de interacción dipolo-dipolo entre un grupo dador de protón (D) y un grupo aceptor de protón (A). Su enorme importancia, en la asociación molecular, se debe a que: es común, bastante fuerte y suficientemente direccional; ninguna otra interacción tiene estos tres atributos y las entidades supramoleculares construidas con enlaces de hidrógeno tienen una estructura robusta y una orientación específica.

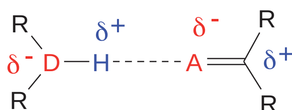


Figura 1.17. Modo estándar de representar átomos dadores (D) y aceptores (A) de proton

Los grupos dadores de enlace de hidrógeno (en algunos textos lo llaman *puente de hidrógeno,* pero esta terminología es obsoleta ya que se trata de un verdadero enlace) tienen un átomo de hidrógeno unido a un átomo electronegativo (tales como nitrógeno, oxígeno o flúor), que forman un enlace muy polar donde el hidrógeno es casi un núcleo desnudo, su densidad

electrónica es muy pequeña, por lo que podrá acercarse mucho a un átomo electronegativo de una molécula vecina con carga parcial negativa o pares electrónicos sin compartir (usualmente átomos de F, O o N) (Figura 1.17).

Un ejemplo clásico es el enlace de hidrógeno entre moléculas de agua. Una molécula de agua tiene dos grupos O-H y dos pares de electrones libres sobre el átomo de oxígeno, es por lo tanto un doble dador y un doble aceptor de enlaces de hidrógeno. Bien conocida es la estructura hexagonal del hielo, donde los átomos de oxígeno están ordenados de un modo regular y repetitivo, pero los átomos de hidrógeno de cada molécula de agua se orientan en diferentes direcciones (Figura 1.18).

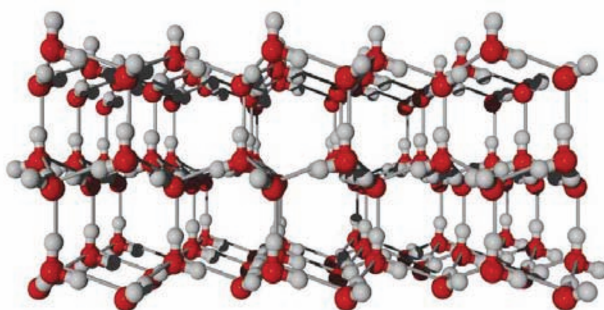


Figura 1.18. Estructura del hielo (Polimorfo Ih)

Las interacciones por enlace de hidrógeno se clasifican en *primarias*: interacción directa entre el grupo dador y aceptor pudiendo ser lineal, inclinada, enlaces bifucardos y aceptores y dadores compartidos (Figura 1.19).

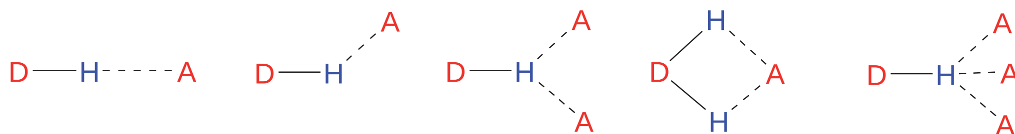


Figura 1.19. Varios tipos de geometría de enlaces de hidrógeno

También hay interacciones *secundarias* entre los grupos vecinos. De este modo, la fortaleza del enlace puede aumentar o disminuir en función de la atracción o repulsión entre las cargas.

La doble hélice del ADN sirve para mostrar un ejemplo de agregados donde están presentes todas las interacciones que se acaban de ver. El par guanina-citosina tiene tres interacciones primarias y también interacciones secundarias atractivas y repulsivas (Figura 1.20).

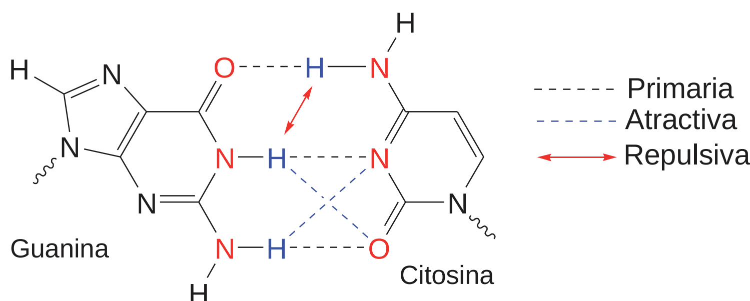


Figura 1.20. Interacciones por enlace de hidrógeno (primarias y secundarias) en el ADN

Los enlaces de hidrógeno pueden ser intermoleculares o intramoleculares, y su fuerza difiere mucho entre los distintos sistemas. Además, no siempre guarda correlación con la acidez de Brønsted y depende del tipo del átomo electronegativo al que esta unido el átomo de hidrógeno y de la geometría. Los valores típicos están en el intervalo de 4 a 120 kJ mol^{-1}, pero para la gran mayoría, los valores están por debajo de 60 kJ mol^{-1}. Se suelen dividir en tres grandes categorías: fuertes, moderados y débiles, cuyas propiedades se indican en la Tabla 1.3.

Tabla 1.3. Clasificación y algunas propiedades de los enlaces de hidrógeno

D-H···A	**Fuerte**	**Moderado**	**Débil**
	Principalmente covalente	**Principalmente electrostático**	**Electrostático**
Energía (kJ mol^{-1})	60–120	16–60	< 12
Longitud (Å): H···A **D···A**	1,2–1,5 2,2–2,5	1,5–2,2 2,5–3,2	2,2–3,2 3,2–4,0
Ángulo de enlace (º)	175–180	130–180	90–150
Ejemplos	Complejos HF	Ácidos, Alcoholes ADN/ARN	C–H···A D–H···π

1.5.3. Interacciones π

Existen dos interacciones π principales: catión π y π–π. Las interacciones catión π son interacciones moleculares no covalentes entre la cara de un sistema π rico en electrones (ejemplo: benceno, etileno) con un catión adyacente (ejemplo: Na^+, Li^+, K^+). Son muy conocidas en química organometálica, y también juegan un papel muy importante en la estabilización de la estructura tridimensional de las proteínas y en el reconocimiento molecular.

El benceno no tiene un momento dipolar permanente, pero el sistema π, por encima y por debajo del anillo, implica una carga negativa parcial por lo que puede interactuar favorablemente con otros iones cargados positivamente (Figura 1.21).

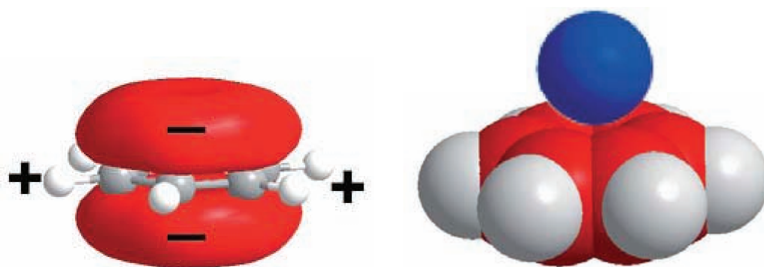


Figura 1.21. Interacción catión π. Benceno y K^+

Las interacciones débiles electrostáticas π–π tienen lugar entre núcleos aromáticos. Existen dos tipos generales: *cara-cara* y *vértice-cara* (*face to face* y *edge to face)*. En la primera de ellas la interacción se produce entre el centro de un anillo y el extremo del otro y, en la segunda, es el átomo de hidrógeno de un anillo el que interacciona perpendicularmente con el centro del otro anillo (Figura 1.22).

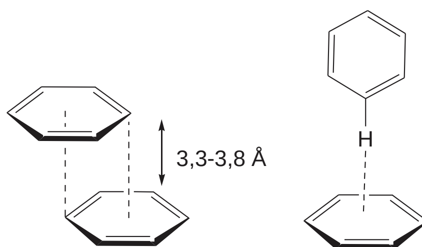


Figura 1.22. Los dos tipos de interaccione π–π

Las propiedades electrónicas de los sustituyentes en el sistema π también determinan la fuerza de la atracción de esta interacción (ver Ejercicio de autocomprobación n.º 5).

Ejemplos de estructuras en las que están presentes estas interacciones son el grafito y de nuevo en la estructura de la doble hélice del ADN.

1.5.4. Interacciones de van der Waals

En un principio, se podría pensar que no hay forma de que las moléculas no polares puedan atraerse entre sí, pero cuando los átomos no cargados se encuentran muy próximos, las variaciones aleatorias en la posición de los electrones alrededor de los núcleos, pueden inducir la aparición sobre dichos átomos de dipolos eléctricos transitorios. Las atracciones electrostáticas entre estos dipolos se denominan interacciones o fuerzas de van der Waals (Figura 1.23) y son propias de las cadenas hidrocarbonadas.

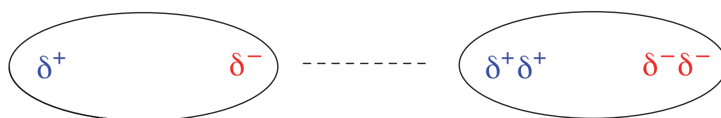


Figura 1.23. Interacciones de van der Waals

Son fuerzas muy débiles, inespecíficas y de naturaleza fluctuante, la acción combinada de muchas de ellas puede conferir gran estabilidad a una asociación molecular dada. Son interacciones importantes en la formación de compuestos de inclusión (ver Tema 2) donde pequeñas moléculas orgánicas se incorporan a una red cristalina o a una cavidad molecular.

1.5.5. Interacción hidrófoba

Desde un punto de vista energético, las interacciones electrostáticas, los enlaces de hidrógeno y las interacciones de van der Waals en moléculas polares en entornos acuosos, no son favorables ya que compiten con las interacciones molécula polar-agua. En cambio, en el caso de moléculas con marcado carácter apolar o no polares, ocurre lo contrario. La ausencia de interacciones favorables entre el agua y las moléculas no polares da lugar a que las moléculas interaccionen entre ellas de forma más favorable a

como lo harían si estuvieran en disolventes orgánicos. Estas interacciones se producen cuando zonas hidrófobas de una misma molécula o de moléculas diferentes se aproximan entre sí, excluyendo el agua que las rodea, para establecer entre ellas un contacto estable (Figura 1.24), tal y como ocurre, por ejemplo, en las membranas celulares, en la estructura tridimensional de las proteínas o en los ácidos nucleicos. En el Tema 2 se verán otros ejemplos donde está presente esta interacción.

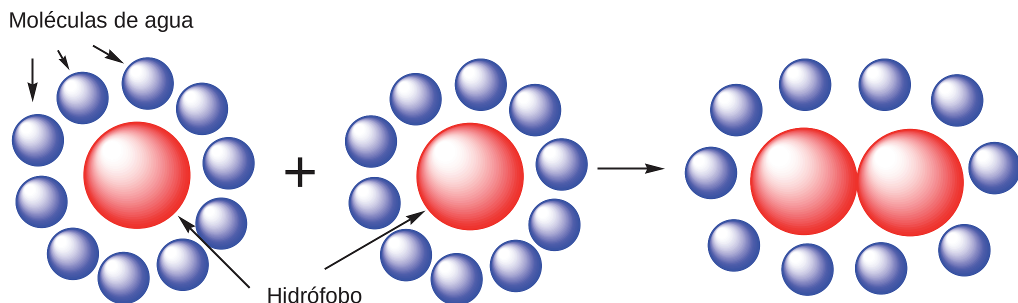


Figura 1.24. Representación esquemática del efecto hidrófobo

La fuerza de estas interacciones no reside en una atracción intrínseca entre las regiones hidrófobas, sino en la tendencia de éstas a ofrecer al agua la mínima superficie de contacto posible. Son relativamente más fuertes que las interacciones de van der Waals y que algunos enlaces de hidrógeno. Su fortaleza depende de: *la temperatura* (al aumentar disminuye la fuerza de la interacción), del *número de carbonos* presentes en la molécula (a mayor número, mayor fuerza) y de la *forma de la molécula* (las moléculas alifáticas tienen interacciones más fuertes que los compuestos aromáticos y las ramificaciones, debido al impedimento estérico, reducen este efecto).

Los factores termodinámicos de este efecto son complejos y pueden dividirse en dos componentes energéticos, entálpico y entrópico y, en general, para una interacción predominantemente hidrófoba: $\Delta H > 0$ y $\Delta S > 0$.

En el Tema 2 se verán muchos ejemplos que ponen de manifiesto la enorme importancia de estas interacciones. Ser capaces de entender, predecir y controlar, todas estas fuerzas no-covalentes, permitirá conocer como se unen las moléculas, y de este modo, mejorar la selectividad y eficiencia de los diferentes procesos que, en definitiva permitirá avanzar en muchas áreas de trabajo (nuevos materiales, fármacos, etc) muy necesarias para toda la sociedad.

CONCEPTOS CLAVE

1. La química bioorgánica es un área en expansión que integra la química orgánica y la bioquímica e implica el estudio de las moléculas y de las reacciones químicas que se llevan a cabo en los organismos vivos.
2. La enantioespecificidad, estereoespecificidad hacia los enantiómeros, es la regla que gobierna la gran mayoría de las reacciones que tienen lugar en los seres vivos. La quiralidad es un aspecto relevante y esencial en toda forma de vida.
3. La proximidad de grupos reactivos en una transformación química permite la polarización de los enlaces, lo que conduce generalmente a un incremento en la velocidad de reacción. El estudio de las reacciones orgánicas ayuda a construir modelos adecuados de las reacciones enzimáticas.
4. Los grupos bioisósteros son grupos o compuestos que poseen formas y volúmenes similares, que tienen una distribución electrónica parecida, y que exhiben propiedades físico-químicas similares. Esta propiedad se utiliza con frecuencia en el diseño de nuevos compuestos con actividad farmacológica.
5. Para construir un sistema bioorgánico que posea la propiedad buscada, hay que tener en cuenta factores, estéricos, conformacionales, efectos inductivos y de resonancia.
6. El reconocimiento molecular es el fenómeno mediante el cual una especie química es reconocida e identificada selectivamente por un receptor adecuado.
7. La hipótesis (metafórica) de la llave y la cerradura (*lock and key*), formulada por E. Fischer en 1894, es útil para explicar la especificidad de una enzima (la cerradura) por un sustrato (la llave).
8. Las supramoléculas se pueden agrupar en tres grandes áreas: receptor, transportador y catalizador. Cada una de las cuales tiene una función específica, está implicada en distintos procesos y debe responder a distintas necesidades.
9. La química biomimética o química abiótica no se limita solo a imitar a los sistemas vivos, también puede crear nuevos tipos de estructuras,

nuevos catalizadores, nuevos transportadores capaces de realizar funciones iguales o distintas que las que realizan los seres vivos y con eficiencia y selectividad comparables.

10. Las interacciones no-covalentes son considerablemente más débiles que las covalentes pero cuando se utilizan de una manera cooperativa son capaces de formar entidades muy estables.

11. Las interacciones iónicas y dipolares consisten en considerar cargas formales localizadas en los átomos. Pueden agruparse en tres categorías: ion-ion, ion-dipolo y dipolo-dipolo.

12. El enlace de hidrógeno es la interacción no-covalente más importante en el diseño de arquitecturas moleculares. Representa una clase especial de interacción dipolo-dipolo entre un grupo dador de proton (D) y un grupo aceptor de proton (A).

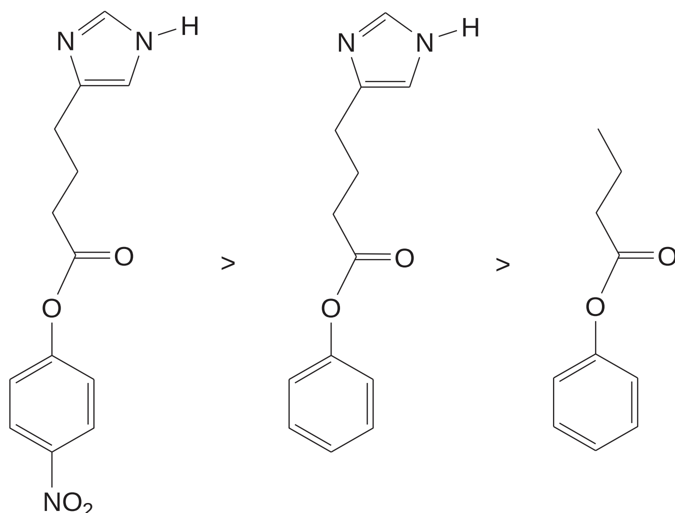
13. Existen dos interacciones π principales: catión π y π–π. Las interacciones catión π son interacciones moleculares no covalentes entre la cara de un sistema π, rico en electrones con un catión adyacente. Las interacciones débiles electrostáticas π–π tienen lugar entre núcleos aromáticos.

14. Las atracciones electrostáticas entre los dipolos eléctricos de los átomos se denominan interacciones de van der Waals.

15. La interacción hidrófoba se produce cuando zonas hidrófobas de una misma molécula o de moléculas diferentes se aproximan entre sí, excluyendo el agua que las rodea, para establecer entre ellas un contacto estable.

EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

1. Explicar razonadamente el orden de velocidad de hidrólisis observado para los siguientes compuestos:



2. La hidrólisis del 4-clorobutanol (k_{rel}=1) en medio básico transcurre a una velocidad muy superior a la del 3-cloropropanol (k_{rel}=5,7 10^3) en las mismas condiciones. Indicar los productos que se obtienen y dar una explicación razonada.

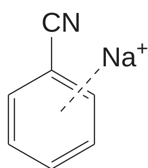
3. La bioisostería es una estrategia ampliamente utilizada para el diseño racional de fármacos. A continuación se muestran ejemplos de compuestos isósteros encontrados en la naturaleza:

   serina (**1**)/cisteina (**2**); tirosina (**3**)/histidina (**4**); citosina (**5**)/uracilo (**6**); adenina(**7**) /guanina (**8**); cafeína (**9**)/teofilina (**10**); ácido salicílico (**11**)/ ácido antranílico (**12**).

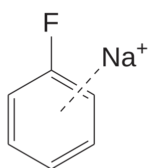
   Formular los compuestos y resaltar los grupos bioisósteros.

4. Las cuatro bases nitrogenadas del ADN pueden existir, al menos, en dos formas tautómeras: formas amino/imino (adenina y citosina) y formas ceto/enol (guanina y timina). Dibujar las formas tautómeras mencionadas y señalar los grupos dadores y aceptores de enlace de hidrógeno en las formas tautómeras más estables presentes en los nucleótidos.

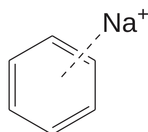
5. Explicar los valores de energía de enlace (en kcal mol^{-1}) observados en los siguientes compuestos:



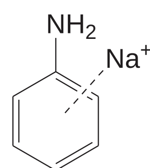
15,7



22,0



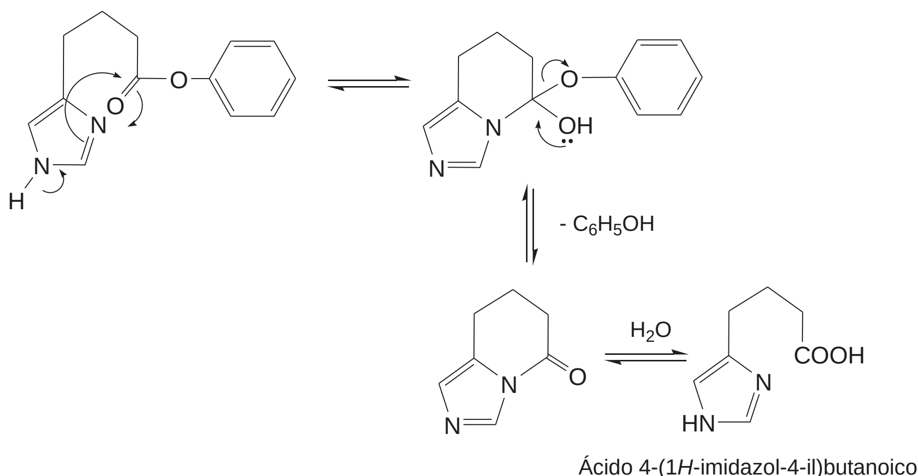
27,1



31,8

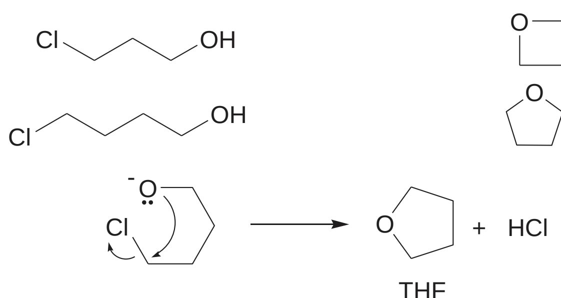
SOLUCIONES A LOS EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

1. La función éster del 4(1*H*-imidazol-4-il)butanoato de fenilo se hidroliza mucho más rápido que el butanoato de fenilo. Si además está presente un grupo nitro en el anillo de fenilo, la velocidad de hidrólisis es incluso mayor a pH neutro, debido al efecto inductivo –*I* del grupo nitro que le hace mejor grupo saliente.

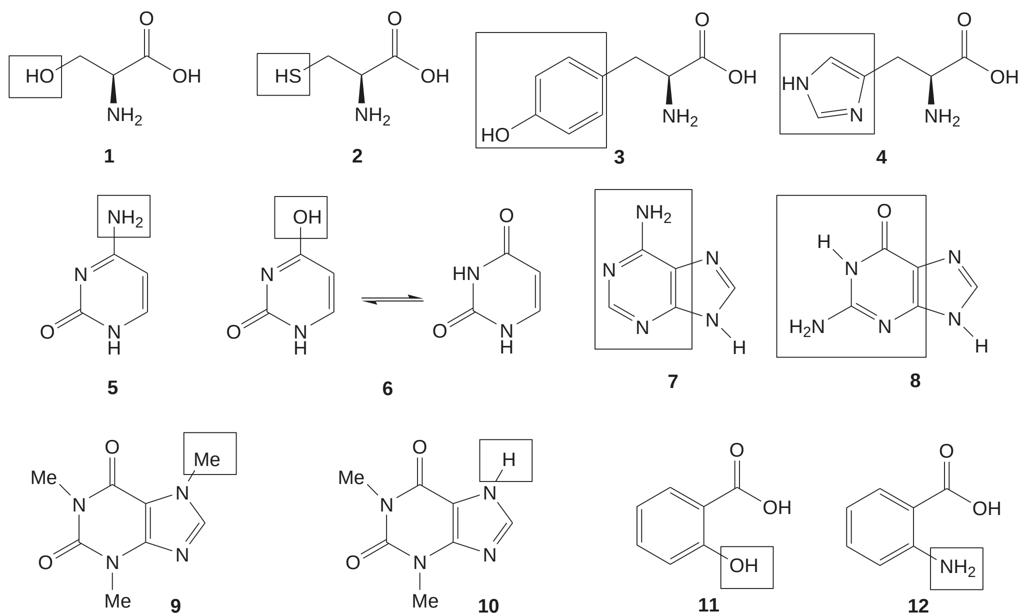


El grupo imidazol actúa como un catalizador nucleófilo en un proceso en dos etapas, su proximidad a la función éster y la formación de un intermedio cíclico son los factores responsables para el aumento de velocidad observado experimentalmente.

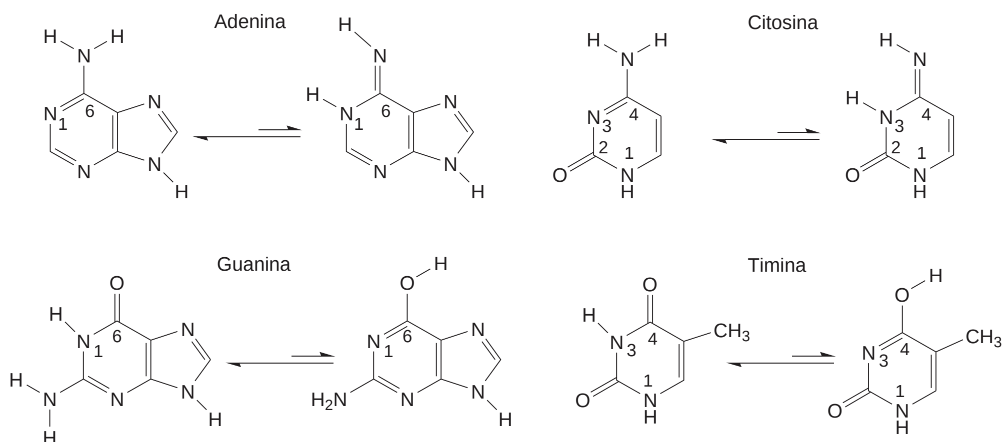
2. En este ejemplo, la efectividad de la asistencia anquimérica se debe al grado de facilidad permitido por los requisitos geométricos y depende de la longitud de la cadena que separa ambos sustituyentes.



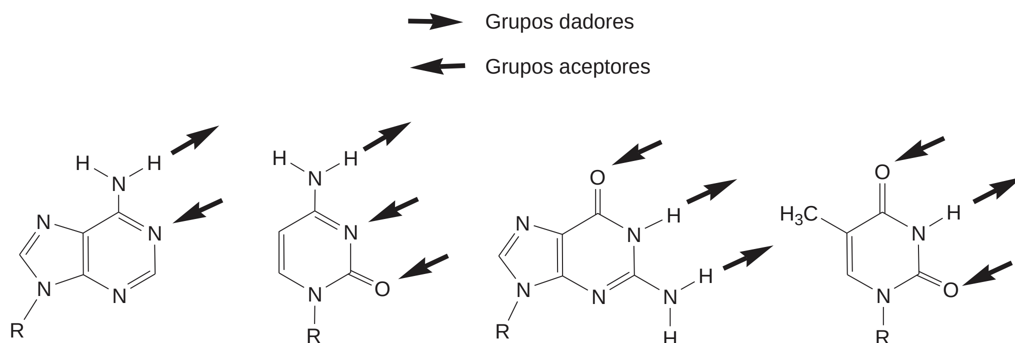
3.



4. Las formas tautómeras de cada base están en equilibrio siendo más estables y por lo tanto predominantes, las formas amino y ceto en las condiciones encontradas en la mayoría de las células.



Estas bases nitrogenadas, presentes en los nucleótidos, pueden formar enlaces de hidrógeno. A continuación se indican los grupos dadores y aceptores.



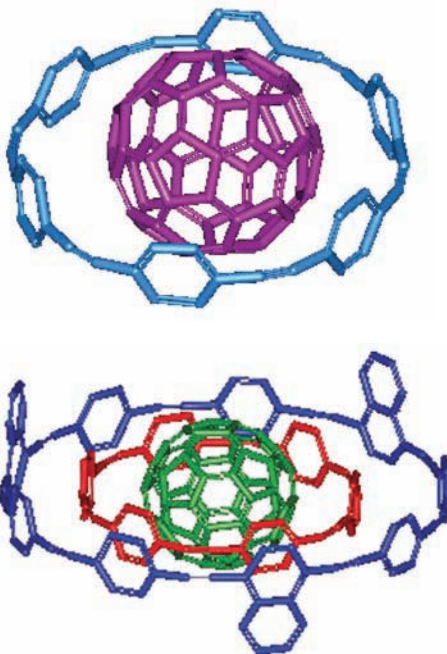
Las interacciones por enlace de hidrógeno de las bases tienen consecuencias importantes en la estructura tridimensional de los ácidos nucleicos.

5. La fuerza de interacción catión π presente en estos compuestos, depende de las propiedades electrónicas de los sustituyentes. Los grupos que atraen electrones (como el grupo ciano) disminuyen la densidad de carga negativa en el sistema π, con lo que debilitan la interacción. Por el contrario, los grupos que ceden electrones (como el grupo amino) incrementan la separación de la carga del cuadrupolo y fortalecen la unión catión-π. El hecho de que el efecto inductivo –*I* del grupo ciano sea mayor que el del fluor hace que la interacción del fluorobenceno con el catión sea mayor.

TEMA 2

QUÍMICA SUPRAMOLECULAR. RECEPTORES. COMPUESTOS SUPRAMOLECULARES

Rosa M.ª Claramunt Vallespí



Compuestos supramoleculares constituidos por un Fullereno incluido en la cavidad de un Ciclofano (saturno) y de dos Ciclofanos (sistema solar)

SUMARIO

OBJETIVOS

General

Conocer los fundamentos de la química supramolecular y la estructura de los diferentes receptores de cationes, moléculas orgánicas y aniones, así como alguna de las funcionalidades de los compuestos supramoleculares obtenidos.

Específicos

1. Aplicar los conocimientos de las interacciones moleculares no-covalentes a la química supramolecular.
2. Clasificar los compuestos supramoleculares y determinar su estabilidad.
3. Conocer y diferenciar los diferentes tipos de receptores.
4. Identificar los factores que determinan la afinidad máxima de un compuesto supramolecular.
5. Conocer algunas aplicaciones de los compuestos supramoleculares en sistemas biológicos, fármacos, materiales y dispositivos funcionales.

2.1. DEFINICIÓN Y OBJETIVOS

La química supramolecular surge en la década de 1960 con los trabajos de los norteamericanos Charles J. Pedersen (Du Pont, Wilmington) y Donald J. Cram (University of California, Los Ángeles), sobre éteres corona y esferandos, respectivamente, y del francés Jean Marie Lehn (Université Louis Pasteur Strasbourg, Collège de France, París), acerca de los criptandos. Estos tres científicos recibieron en 1987 el Premio Nobel de Química, «por el desarrollo y empleo de moléculas con interacciones específicas de alta selectividad». Actualmente, la química supramolecular es un área muy desarrollada que cuenta con revistas especializadas y una extensa literatura monográfica, enciclopédica y libros de texto.

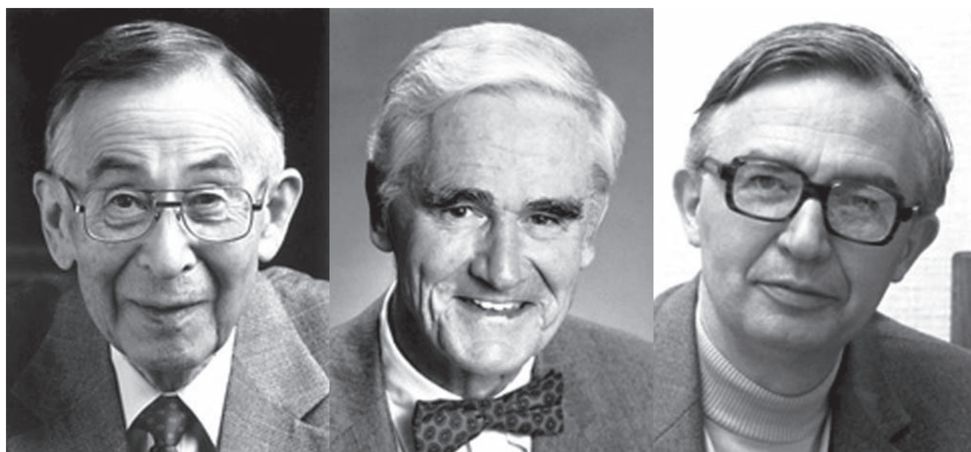


Figura 2.1. Charles J. Pedersen, Donald J. Cram y Jean Marie Lehn

Resulta interesante señalar que el término supramolécula ya fue introducido en la década de 1930, *übermoleküle* (en alemán), para definir el dímero formado entre dos moléculas de ácido acético y especies análogas.

Sin embargo, el concepto de supramolecularidad no se utiliza en la actualidad para casos de asociaciones entre moléculas tan pequeñas.

El Prof. Jean-Marie Lehn definió la *química supramolecular* como «la química de los enlaces intermoleculares no-covalentes, que estudia las estructuras y funciones de entidades formadas por dos o más especies químicas». Es la química más allá de la molécula, una química intermolecular en la que las especies químicas constituyentes de un agregado o entidad supramolecular no se enlazan covalentemente entre sí.

Ello tiene una gran importancia desde el punto de vista nanotecnológico ya que significa que las interacciones entre las moléculas, para formar el compuesto supramolecular, son dinámicas y reversibles.

En comparación con los enlaces covalentes, ya se ha visto en el tema 1 que las interacciones intermoleculares no-covalentes tales como ion-ion, ion-dipolo, dipolo-dipolo, enlace de hidrógeno, apilamiento π-π, catión-π, anión-π, interacción de van der Waals, interacción hidrófoba, etc., son débiles. Sin embargo, en algunos sistemas biológicos se observa que varios procesos fundamentales como la replicación, las interacciones anticuerpo-antígeno, o la catálisis enzimática, se realizan con asombrosa eficiencia debido a una acción muy bien organizada de las fuerzas intermoleculares entre solo dos moléculas.

El desarrollo de la química supramolecular está fuertemente ligado a los estudios de sistemas biológicos. El descubrimiento de la importancia de las interacciones no-covalentes para el mantenimiento de las estructuras de moléculas biológicas y su funcionamiento ha estimulado los estudios sobre la naturaleza de estas interacciones. La construcción de compuestos supramoleculares tiene mucho que ver con el efecto sumativo o incluso multiplicativo de las interacciones no-covalentes entre moléculas. Cuando la estabilidad de una supramolécula es mayor que la suma de las energías de interacción entre los centros de enlace implicados se habla de *efecto cooperativo* positivo.

Por otro lado, intentos de reproducir o mimetizar algunos procesos biológicos, por ejemplo, el transporte iónico a través de membranas celulares o catálisis enzimática, en sistemas químicos, han conducido al desarrollo de nuevos principios de diseño de reactivos analíticos, catalizadores y fármacos.

En resumen, los objetivos fundamentales de la química supramolecular son:

- Comprender cómo las moléculas biológicas se reconocen unas a otras para agregarse formando estructuras complejas y mimetizar su comportamiento.
- Construir materiales y dispositivos funcionales, también denominados inteligentes, utilizando los principios y leyes que rigen la Naturaleza.

Entre los sistemas supramoleculares inteligentes destacan: interruptores moleculares, memorias moleculares, máquinas moleculares y los sensores. Pero también, los cristales moleculares nanoporosos con tamaños, formas y entornos químicos controlables y cristales líquidos con propiedades eléctricas, magnéticas y ópticas de interés.

2.2. CLASIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS SUPRAMOLECULARES. ESTABILIDAD Y SELECTIVIDAD

Dos aspectos fundamentales en química supramolecular son reconocimiento y auto-organización. El fenómeno de interacción no-covalente fuerte y específica se denomina reconocimiento molecular y los componentes de esta interacción se llaman receptor y ligando o sustrato.

Con frecuencia, el receptor es una molécula grande que posee una cavidad o una grieta capaz de incorporar a otra molécula más pequeña. En este caso el receptor se llama anfitrión (*host*) y el ligando huésped (*guest*); el producto de asociación entre ellos, la supramolécula, se denomina complejo de inclusión (*host-guest*), y en ella *host* y *guest* son complementarios. A lo largo de este tema se utilizarán indistintamente los términos *host*/anfitrión/receptor y *guest*/huésped/ligando/sustrato, pero mayormente los términos originales en inglés que en definitiva han dado lugar a que la química supramolecular sea también conocida como química *host-guest*.

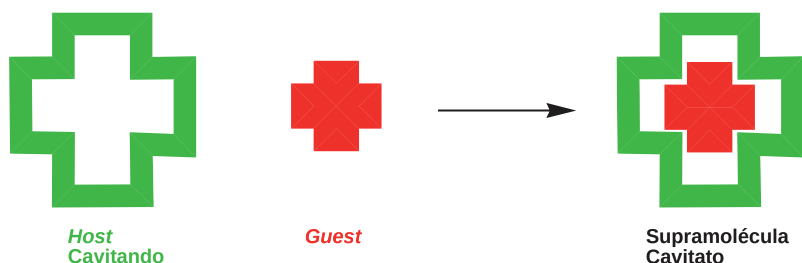


Figura 2.2. Formación del complejo *host-guest* Cavitato

Los receptores grandes pueden ser moléculas naturales, como las enzimas, o artificiales. Los ligandos de pequeño tamaño son cationes, aniones o moléculas orgánicas neutras, pero también hormonas, feromonas y neurotransmisores.

El tipo de *host* como el representado en la figura 2.2 pertenece al grupo de los *cavitandos*, que se caracterizan por poseer una cavidad intramolecular capaz de incluir un *guest* formando el complejo supramolecular *cavitato*, cuya entidad se mantiene tanto en disolución como en estado sólido.

Formalmente, el *host* se define como una molécula que posee centros de enlace *convergentes* (átomos dadores básicos de Lewis, dadores de enlace de hidrógeno, etc.) y el *guest* centros de enlace *divergentes* (cationes metálicos ácidos de Lewis, aniones haluro aceptores de enlace de hidrógeno, etc.).

Un segundo grupo de *hosts* son los denominados *clatrandos*, que albergan *guests* en las cavidades o huecos existentes entre ellos originando los *clatratos*, tal como se indica en la figura 2.3. Este tipo de entidades supramoleculares ocurre únicamente en fase sólida o en fase cristalina.

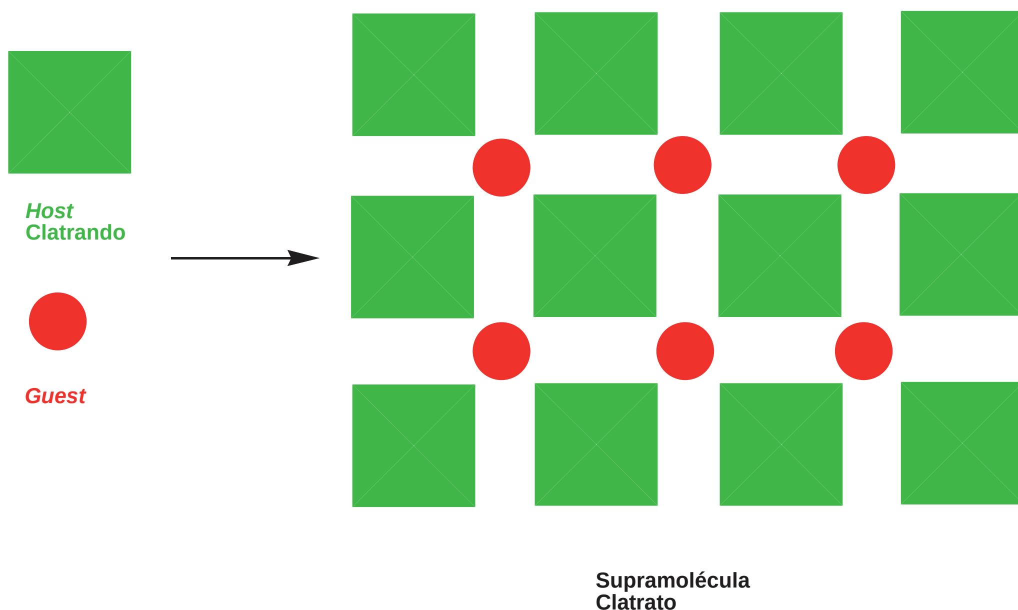


Figura 2.3. Formación del complejo *host-guest* Clatrato

Finalmente, se considera un tercer grupo al que pertenecen los *agregados supramoleculares* constituidos por moléculas de tamaño similar que se asocian mediante interacciones no-covalentes, a ninguna de las cuales se les puede aplicar el término *host* o *guest*. Se trata de auto-asociaciones de pares (o series) complementarias de moléculas (Figura 2.4), que mantienen su identidad tanto en disolución como en estado sólido.

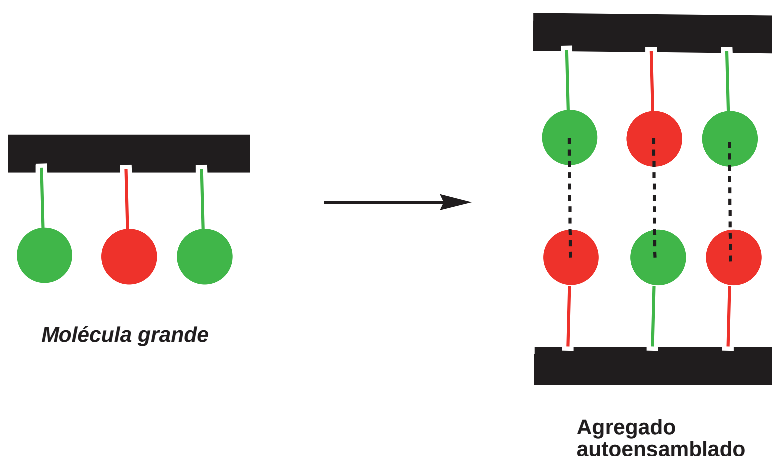


Figura 2.4. Formación del agregado o complejo supramolecular

Puesto que la frontera entre los diferentes tipos de compuestos supramoleculares es en ocasiones difusa, de manera general se utiliza el término *complejo* para describirlos.

Los receptores también pueden clasificarse en *monotópicos* cuando la molécula del *host* interactúa con un solo *guest*, que es el caso más común y *politópicos* (di-, tri- tetra-, etc) cuando dos o más subunidades del *host* se unen a varios *guests* para formar el complejo.

Estabilidad y afinidad de un complejo supramolecular: Constante de enlace *K*

La estabilidad termodinámica de un complejo *host*-*guest* en un disolvente determinado, a menudo agua o metanol, a una temperatura dada se juzga por la medida de la constante de enlace, *K*. Estrictamente la constante de enlace no tiene dimensiones, pero puesto que suele calcularse de ma-

nera aproximada utilizando concentraciones posee las unidades dm^3 mol^{-1} o M^{-1}, para un complejo 1:1. Constituye el parámetro fundamental para determinar la afinidad de un complejo *host-guest* en disolución.

La constante de enlace se conoce también como constante de formación K_f, constante de asociación K_a o constante de estabilidad K_s. En sistemas biológicos, en cambio, se utiliza la constante de disociación K_d que es la inversa de la constante de enlace y por lo tanto tiene unidades de concentración. El valor de K_d es una medida directa de la concentración por debajo de la cual un complejo (fármaco-receptor, enzima-sustrato, *host-guest*) se disociará.

La constante de enlace se define como la constante de equilibrio de la reacción entre *host* (**H**) y *guest* (**G**) para formar el complejo de estequiometría 1:1 (**HG**) en un disolvente determinado, en la aproximación ya señalada de considerar que las actividades de las especies involucradas son iguales a las concentraciones, o lo que es lo mismo, que el coeficiente de actividad o factor que corrige la desviación del comportamiento ideal es igual a 1 para cada una de ellas.

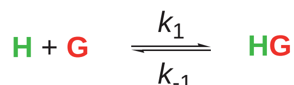
Valores altos de K indican una elevada concentración del complejo **HG**, es decir una alta *afinidad* entre **H** y **G** y que el complejo **HG** es muy estable.



$$K = \frac{[HG]}{[H]\,[G]}$$

Las constantes de enlace K están relacionadas con la energía libre del proceso de asociación mediante la ecuación de Gibbs, $\Delta G° = -RT \ln K$ donde R es la constante de los gases, 8,314 J K^{-1} mol^{-1}, y T la temperatura en Kelvin. De este modo la afinidad entre un *host* y un *guest* en condiciones específicas (disolvente, temperatura, etc.) se puede dar en términos de los valores de K o $-\Delta G°$. Las energías de complejación en química supramolecular se encuentran en el rango de 1 a 300 kJ mol^{-1} (1 kJ = 4,184 kcal).

Las constantes de enlace K pueden ser también definidas en términos de las constantes de velocidad k_1 y k_{-1} de las reacciones de complejación y descomplejación.



$$K = \frac{k_1}{k_{-1}}$$

En principio, las constantes de enlace pueden ser determinadas por cualquier técnica que permita obtener información sobre la concentración del complejo [**HG**], en función de los cambios de concentración del *host* [**H**] o del *guest* [**G**]. Es decir mediante potenciometría, fluorescencia, Resonancia Magnética Nuclear (RMN), Ultavioleta-Visible, calorimetría o experimentos de extracción, etc.

Uno de los aspectos clave en la determinación de *K* por cualquiera de las técnicas mencionadas es asumir o determinar con carácter previo, la estequiometría del complejo **HG** que aunque en general suele ser 1:1, en ocasiones ha conducido a graves errores por haber ignorado la posibilidad de formación de otros agregados.

Para cada método hay que seleccionar el rango de concentración en el que existan cantidades significativas de las tres especies en equilibrio, limitando de esta forma la determinación de la constante de enlace por una técnica particular.

Además, si la unión entre un *host* y un *guest* es demasiado fuerte habrá que añadir otro *host* de menor afinidad hacia ese mismo *guest* para que compita en su unión hacia éste, de manera que se reduzca la constante de enlace aparente, que es la que se determina, de acuerdo con la diferencia de afinidad entre los dos *host* hacia el *guest*. La afinidad real es entonces extrapolada a partir del dato de la constante de enlace del complejo entre el *guest* y el *host* de menor afinidad.

Selectividad termodinámica y cinética

Uno de los factores más importantes en el diseño de sistemas supramoleculares es asegurar que el *host* tiene preferencia por una especie de *guest* determinada. El *host* debe ser capaz de discriminar entre especies o lo que es lo mismo mostrar un alto grado de *selectividad* hacia el *guest* objetivo. Existen dos tipos de selectividad, termodinámica y cinética.

La *selectividad termodinámica* se define como el cociente entre las constantes de enlace de un anfitrión hacia dos huéspedes diferentes, K_{G1} y K_{G2}, y a ella nos referiremos en todos los casos en este tema.

$$\text{Selectividad} = \frac{K_{G1}}{K_{G2}}$$

No debe ser confundida con la *selectividad cinética*, un concepto diferente en el que interviene el factor tiempo y que se utiliza generalmente en el contexto de los procesos catalíticos o enzimáticos donde un sustrato (*guest*) se transforma, mediante enlace al catalizador para formar un complejo al objeto de disminuir la energía de activación del proceso o reacción. La velocidad a la que sustratos competitivos se transforman es el factor determinante para la selectividad cinética; un catalizador o enzima será selectivo hacia el sustrato que reacciona más rápidamente.

2.3. RECEPTORES DE CATIONES

2.3.1. Ionóforos biológicos

El fundamento de la química supramolecular moderna se encuentra en el descubrimiento y desarrollo de los ionóforos sintéticos. Los *ionóforos* son receptores capaces de transportar iones metálicos de diversos tipos, incluyendo a los de los metales alcalinos, a través de medios no-polares como las membranas biológicas. La complejación de los cationes de los metales alcalinos es muy difícil, ya que no son capaces de formar enlaces covalentes y su discriminación constituye una ardua tarea.

Algunos ionóforos biológicos son *carbohidratos o péptidos cíclicos*, por ejemplo, el antibiótico valinomicina, un dodecadepsipéptido constituido por seis aminoácidos (tres de L-valina y tres de D-valina) y seis ésteres (tres de ácido láctico y tres de ácido D-2-hidroxiisovalérico o D-2-hidroxi-3-metilbutanoico) enlazados alternativamente para formar un macrociclo, cuya función biológica es transportar cationes de K^+ a través de membranas celulares de manera selectiva, en particular, en presencia del catión Na^+.

La conformación de valinomicina que se muestra en la Figura 2.5 es tal que los grupos carbonilo están orientados hacia el centro del macrociclo, mientras que los grupos hidrófobos metilo e isopropilo se sitúan en la periferia del mismo. Los cationes metálicos se incluyen en la cavidad del macrociclo mediante las interacciones ion-dipolo con grupos carbonilo y el complejo logra pasar a través de membranas gracias a su exterior hidrófobo. En una mezcla de cationes Na^+ y K^+ en disolución, la valinomicina reconoce al K^+, el complejo con el cual tiene estabilidad de cinco órdenes de magnitud mayor que con Na^+ [log K (metanol, K^+) = 6; log K (metanol, Na^+) = 1].

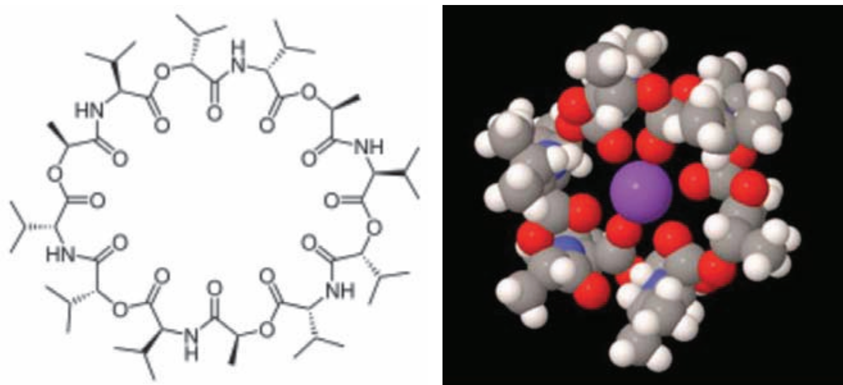


Figura 2.5. Fórmula química de la valinomicina y estructura del complejo que forma con el catión K^+

2.3.2. Éteres corona y podandos

Los *éteres corona* son una serie de receptores macrocíclicos que tienen la capacidad de funcionar como ionóforos para cationes alcalinos, cuya síntesis se debe a Charles J. Pedersen. La Figura 2.6 muestra algunos ejemplos de éteres corona, que se nombran indicando el número total de los átomos en el macrociclo y el número de átomos de oxígeno. El primero de ellos en prepararse fue el dibenzo[18]corona-6, que interesó rápidamente a Pedersen por poseer un alto grado de cristalinidad y peculiares características de solubilidad, era capaz de disolver sales inorgánicas como el $KMnO_4$ en disolventes orgánicos como el benceno para dar una coloración púrpura.

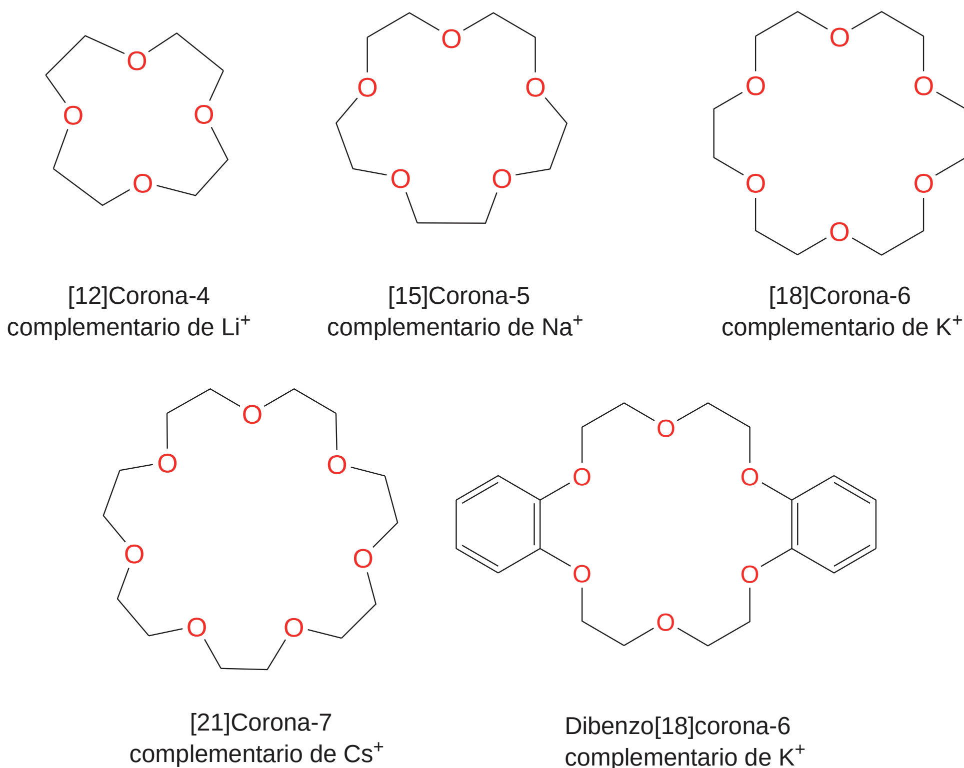


Figura 2.6. Fórmulas químicas de algunos éteres corona

Al igual que la valinomicina, estas moléculas macrocíclicas poseen átomos de oxígeno con cargas parciales negativas capaces de establecer interacciones ion-dipolo con cationes metálicos, y una periferia hidrófoba formada por grupos etilénicos y su afinidad hacia los cationes alcalinos es del mismo orden de magnitud que la afinidad de los ionóforos biológicos. Destacar la selectividad de complejación que es más fuerte por dos órdenes de magnitud con K^+ que con Na^+.

En particular los complejos de [18]corona-6 con cationes de mayor tamaño, Rb^+ y Cs^+, son menos estables que con K^+, y el complejo con Li^+ no se forma en metanol como disolvente. El orden de estabilidad observado $Li^+ << Na^+ < K^+ > Rb^+ > Cs^+$ no corresponde al esperado de la fuerza de interacción ion-dipolo que debe decrecer en el orden en que aumenta el radio iónico, es decir $Li^+ > Na^+ > K^+ > Rb^+ > Cs^+$. La selectividad al catión de tamaño intermedio se debe a que el tamaño de la cavidad del macrociclo

es complementario al tamaño de este catión. La Figura 2.7 muestra el modelo CPK del complejo de [18]corona-6 con el catión de K^+. Además de la complejación de cationes metálicos, el [18]corona-6 forma un complejo estable con el catión amonio NH_4^+ cuyo tamaño es similar al de K^+.

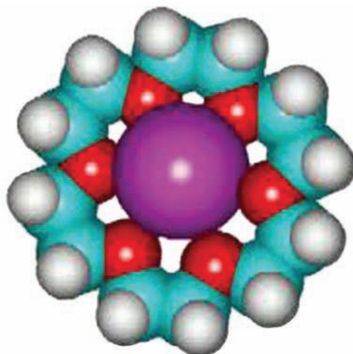


Figura 2.7. Estructura del complejo formado por el [18]corona-6 y el cation K^+

El reconocimiento molecular de cationes alcalinos por los éteres corona sigue el bien conocido principio de «llave-cerradura» (ver Tema 1) establecido hace más de 100 años por Emil Fischer para sistemas biológicos.

Complementariedad y preorganización

La afinidad máxima de un éter corona hacia un catión determinado se consigue cuando la cavidad es complementaria al tamaño del catión. Así, los éteres [12]corona-4, [15]corona-5 y [18]corona-6 con cavidades complementarias a Li^+, Na^+ y K^+, respectivamente, muestran máxima afinidad a los cationes en este mismo orden cuando el disolvente es cloroformo. En realidad, el *principio de óptima complementariedad* entre anfitrión y huésped en el caso de los éteres corona tiene sus límites. Así cuando la determinación de su afinidad hacia diferentes cationes se realiza en metanol, se observa que los macrociclos de tamaño menor que [18]corona-6 no tienen la selectividad esperada hacia cationes más pequeños y siguen formando complejos más estables con K^+. La razón reside en que el metanol es un medio más polar que el cloroformo y la solvatación de los cationes metálicos es más fuerte en metanol. La energía de solvatación, que se debe también a las interacciones carga-dipolo, crece para cationes más pequeños sobrepasando el incremento de la energía de interacción con el receptor.

La naturaleza macrocíclica de los éteres corona es indispensable no únicamente para la selectividad del reconocimiento molecular, sino también para la alta afinidad hacia los huéspedes. Cuando se compara la interacción del catión de K^+ con [18]corona-6 con la de un receptor no cíclico lineal o *podando*, que tiene el mismo número de átomos de oxígeno unidos mediante los mismos grupos etilénicos, el dimetil éter del pentaetilenglicol EG5, la constante de estabilidad del complejo con el macrociclo es 3,78 órdenes de magnitud mayor que con el receptor lineal (Figura 2.8). Con ambos receptores el catión metálico dentro del complejo está en contacto con seis átomos de oxígeno ganando la misma energía de interacción carga-dipolo. Sin embargo, para el receptor lineal hay una disminución significativa de la energía libre para alcanzar la conformación en que se encuentra en el complejo, debido a la pérdida de la rotación libre alrededor de los enlaces sencillos C-C y C-O. Este fenómeno de mayor estabilidad de complejos de receptores macrocíclicos comparando con los lineales se llama *efecto macrocíclico*, y es general tanto para la química supramolecular como para la química de coordinación.

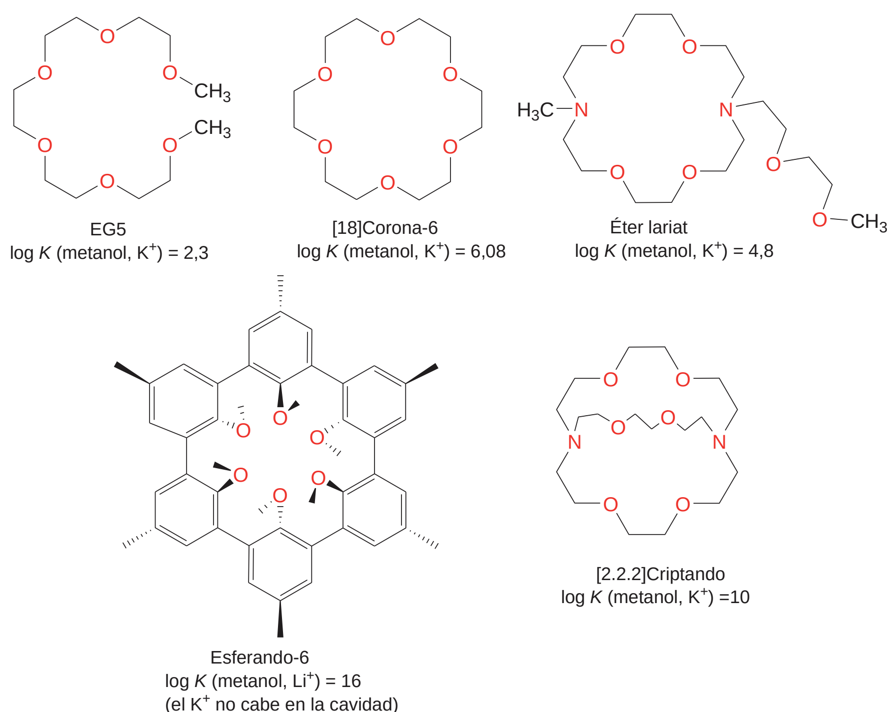


Figura 2.8. Comparación de los efectos de preorganización y complementariedad sobre la afinidad, en términos de la magnitud de la constante de asociación

2.3.3. Esferandos, éteres lariat y criptandos

El principio de complementariedad se cumple mejor con receptores aún más preorganizados para la inclusión de los huéspedes. En los complejos de inclusión de éteres corona aun en el caso de que exista una complementariedad perfecta entre tamaños de la cavidad y del catión metálico, tal como ocurre en el complejo de [18]corona-6 con K^+, el catión está rodeado con átomos de oxígeno solo en un plano, mientras que la interacción sería más eficiente si el catión estuviera rodeado por todos lados de manera octaédrica. Los receptores que tienen este arreglo espacial de los átomos de oxígeno se llaman *esferandos* (Figura 2.8) y su complejación con cationes alcalinos es más fuerte que la que presentan los éteres corona tal como muestran los valores de las constantes de asociación en la figura 2.8. Además los esferandos tienen estructuras más rígidas y la complejación requiere una complementariedad más estricta de tamaños del catión y de la cavidad del receptor. De este modo se logra mayor selectividad de complejación respecto del tamaño del catión, y un mejor cumplimiento del principio de «llave-cerradura».

La sustitución de uno o más átomos de oxígeno en el éter corona por átomos de nitrógeno modifica de manera importante las propiedades químicas del receptor, denominado *aza-corona*. El átomo de nitrógeno, al igual que el de oxígeno, tiene un par de electrones no compartidos y aún mayor basicidad, pero más importante es el hecho de que es posible añadir a este átomo un grupo dador adicional, que permite obtener dos nuevos grupos de receptores llamados *éteres lariat* y *criptandos* (Figura 2.8).

Al igual que los esferandos, los criptandos poseen una cavidad tridimensional para la incorporación del catión metálico y son más rígidos que los éteres corona debido a la existencia de un ciclo adicional, formando complejos más estables y selectivos que éstos.

El desarrollo posterior de receptores basados en los éteres corona está relacionado con la combinación de fragmentos de éteres con receptores de otros tipos. Así, por ejemplo, mediante la combinación con un *calixareno* se obtiene un receptor llamado *calix-corona*. Ello ha permitido en determinados casos llegar a una selectividad que sobrepasa la de la valinomicina. Es decir, se han obtenido sistemas químicos que pueden alcanzar e incluso sobrepasar el nivel de reconocimiento molecular biológico.

2.4. RECEPTORES DE MOLÉCULAS ORGÁNICAS

El reconocimiento de moléculas orgánicas, en general neutras, está basado en interacciones más débiles que en el caso de iones metálicos. Se trata de interacciones de van der Waals, hidrófobas y de enlace de hidrógeno.

En esta sección se examinarán aquellos *hosts* más representativos que poseen una cavidad o una curvatura intrínseca y que a modo de cápsula incluyen a los *guests* para dar complejos estables, en principio en las diferentes fases, disolución, sólido e incluso gas.

2.4.1. Ciclofanos, calixarenos y criptofanos

Los *ciclofanos* son macrociclos con fragmentos aromáticos unidos, al menos, por un puente alifático de n eslabones siendo n ≥ 0; el número de átomos n en cada puente se indica dentro de un corchete antes del término ciclofano y en la Figura 2.9, se muestran algunas estructuras representativas.

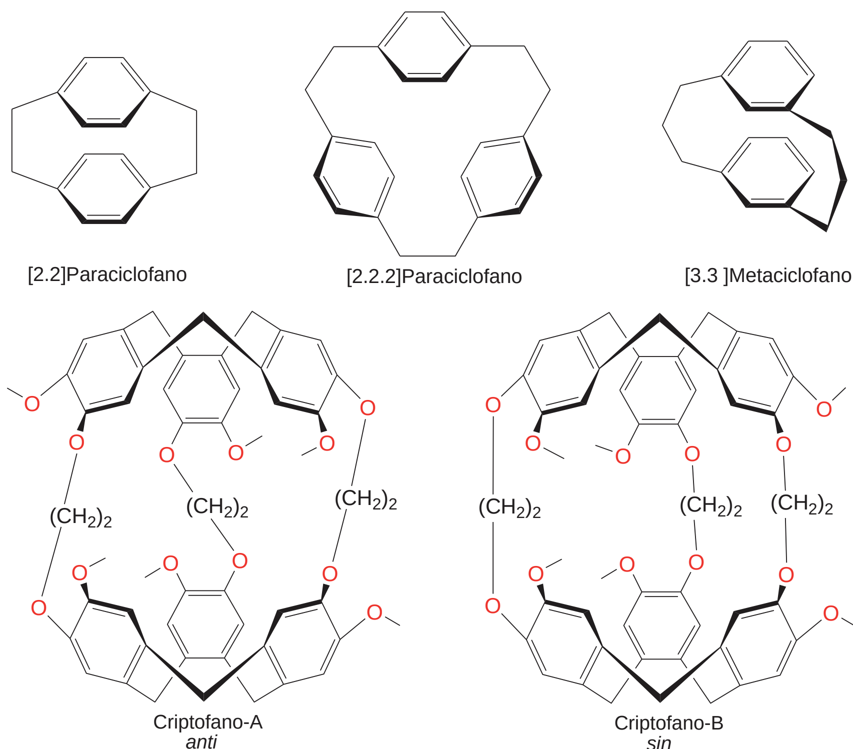


Figura 2.9. Estructuras de ciclofanos y criptofanos

Los ciclofanos policíclicos son conocidos como *criptofanos* o envases moleculares, por su semejanza con los criptandos y en general existen en dos formas diferentes de acuerdo con las orientaciones *anti* y *sin*. Ambos tipos de receptores enlazan fuertemente moléculas o cationes orgánicos de tamaño complementario formando clatratos moleculares, mediante interacciones de van der Waals e hidrófobas.

Un tipo de ciclofanos particularmente popular son las moléculas llamadas calixarenos, así denominados por C. David Gutsche debido a la semejanza de la conformación más estable del macrociclo a un cáliz. Los *calixarenos* se obtienen por condensación de fenoles con formaldehído en condiciones que favorezcan la ciclación en lugar de la polimerización y el número de residuos fenólicos se designa por un número entre corchetes, siendo el más conocido el tetrámero con sustituyentes *p-terc*-butilo denominado *p-terc*-butilcalix[4]areno (Figura 2.10). Cuando el fenol es el resorcinol, 3-hidroxifenol, se obtienen los *resorcarenos*.

La anatomía de los calixarenos hace de esta serie de macrociclos, *hosts* aptos tanto para cationes, se ha mencionado ya anteriormente un derivado de calixareno modificado por un éter corona, como para moléculas neutras y también aniones.

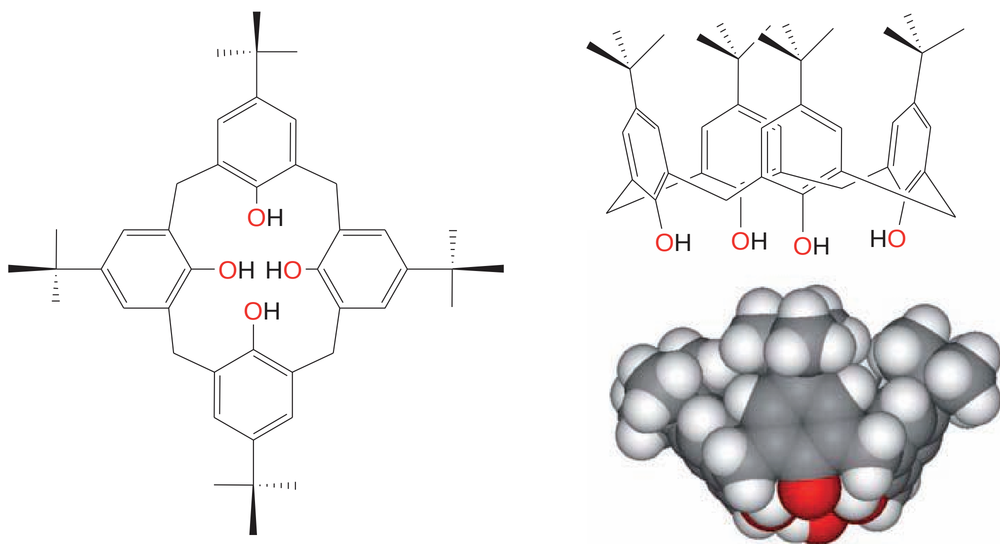


Figura 2.10. Formula química del *p-terc*-butilcalix[4]areno y modelo de la conformación más estable (cono o cáliz)

2.4.2. Ciclodextrinas y cucurbiturilos

Las *ciclodextrinas*, también llamadas cicloamilosas, son oligómeros cíclicos de 5 o más unidades de α-D-glucopiranosa unidas a través de las posiciones 1,4. Los oligómeros más empleados son los de 6, 7 y 8 unidades llamados α-, β- y γ-ciclodextrinas, respectivamente, las cuales son compuestos naturales producidos por tratamiento enzimático del almidón (Figura 2.11).

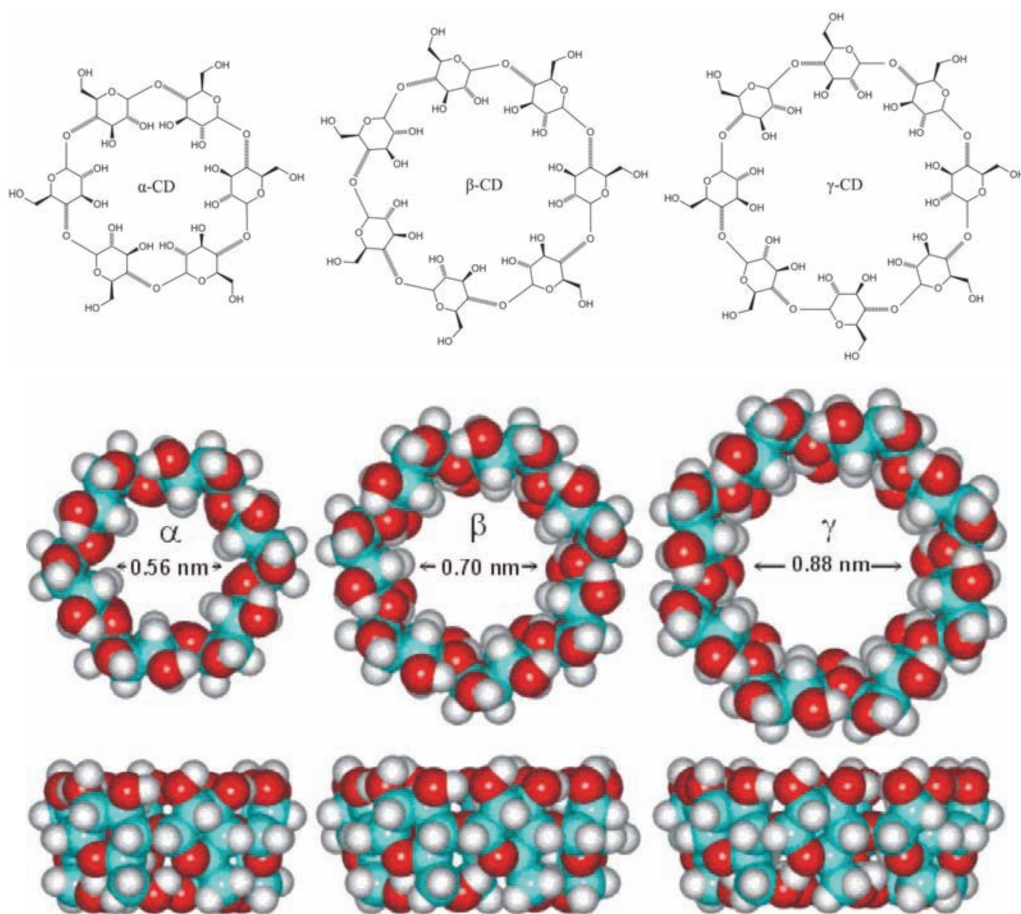


Figura 2.11. Fórmulas de las α-, β y γ- ciclodextrinas y datos de su anatomía cónica

Las ciclodextrinas tienen forma de cono con grupos hidroxilos primarios en la apertura más estrecha y secundarios en la apertura más ancha. El interior de las ciclodextrinas tiene un carácter suficientemente no polar

para permitir una interacción hidrófoba eficiente con moléculas orgánicas incluidas en la cavidad del receptor, y los hidroxilos periféricos confieren al exterior del receptor carácter hidrófilo, de tal manera que el receptor y sus complejos de inclusión son solubles en agua. Forman complejos de inclusión en agua con numerosas moléculas orgánicas, aromáticas y alifáticas, de tal manera que el fragmento hidrófobo del huésped entra en la cavidad del anfitrión, típicamente por el lado más ancho del cono, y los grupos polares conservan su contacto con el agua.

El principio de complementariedad huésped-anfitrión es el factor principal que determina la afinidad y selectividad de las ciclodextrinas, tal como lo observamos para los ionóforos, pero añadiendo otras interacciones intermoleculares como van der Waals e hidrófobas. El bajo coste y la ausencia de toxicidad de las ciclodextrinas las hace muy atractivas para aplicaciones prácticas. En la mayoría de los casos se emplean para incrementar la solubilidad de moléculas hidrófobas. Así, en la industria de alimentos las ciclodextrinas se usan para extraer el colesterol, en la industria farmacéutica para incrementar la permeabilidad y prolongar el tiempo de acción de los fármacos como en el caso del ibuprofeno, poco soluble en agua, y en la industria de perfumería, para prolongar la liberación de fragancias (Figura 2.12). Por último mencionar que las ciclodextrinas son moléculas quirales y por ello es también posible su utilización para el reconocimiento quiral.

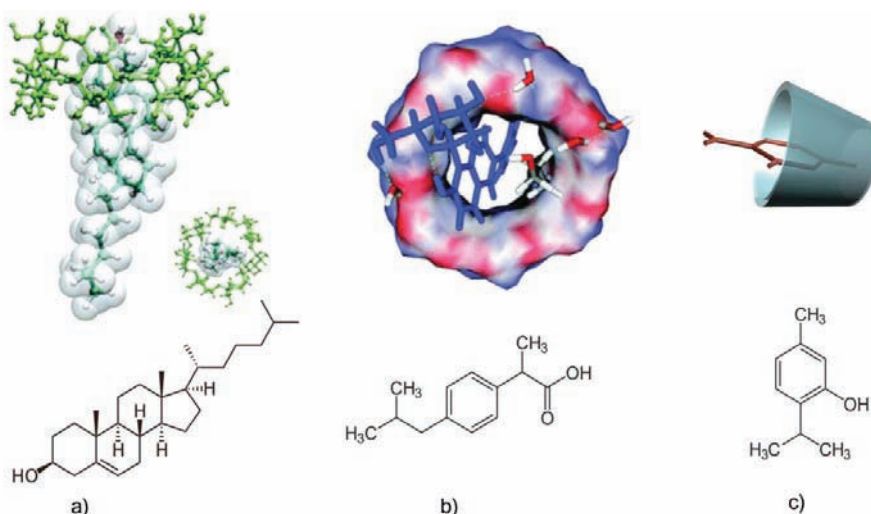


Figura 2.12. Ejemplos de complejos de inclusión de β-ciclodextrina y: a) colesterol; b) ibuprofeno; c) timol, una fragancia

Los *cucurbiturilos* son un grupo de receptores parecidos a las ciclodextrinas, aunque de mayor simetría, que se obtienen mediante la condensación de glicolurilo con formaldehído en medios ácidos. La variación de las condiciones de síntesis (acidez, temperatura, dilución, etc.) permite obtener como producto mayoritario un macrociclo con 6, 7 u 8 unidades de glicolurilo. Los tamaños de las cavidades de estos derivados son cercanos a los de α-, β- y γ-ciclodextrinas, respectivamente. Son macrociclos de forma cilíndrica con aperturas equivalentes en ambos lados del macrociclo (Figura 2.13). Los grupos carbonilo tienen alta carga parcial negativa y los huéspedes típicos para cucurbiturilos son cationes orgánicos que forman complejos de inclusión mediante una combinación de interacciones carga-dipolo e hidrófobas.

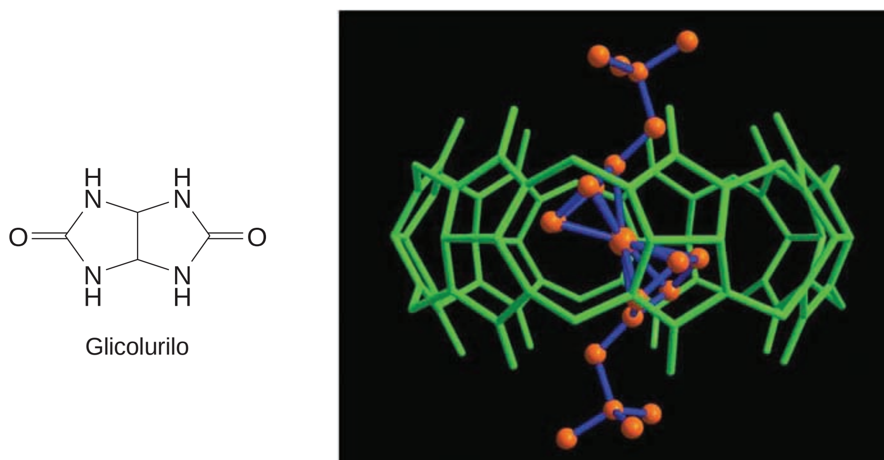


Figura 2.13. Unidad de glicolurilo y un ejemplo de complejo de inclusión del cucurbit[7]urilo con un derivado de ferroceno [log *K* (agua) = 15]

2.5. RECEPTORES DE ANIONES

Los estudios enfocados al reconocimiento de aniones se iniciaron posteriormente al desarrollo de receptores para cationes metálicos y moléculas orgánicas. En general, en disolución y especialmente en medios acuosos, los aniones presentan interacciones intermoleculares más débiles que los cationes, porque están más fuertemente solvatados o hidratados, tienen tamaños más grandes y formas geométricas más variables, lo que hace más difícil conseguir la complementariedad huésped-anfitrión.

Así, encontramos aniones esféricos como los haluros, lineales como SCN^- y N_3^-, planos como NO_3^-, tetraédricos como PO_4^{3-} o SO_4^{2-}, octaédricos como PF_6^- o $Fe(CN)_6^{3-}$, e incluso formas más complejas en el caso de aniones biológicamente importantes como los oligofosfatos.

En general, los receptores de aniones se basan en *hosts* con carga positiva que atraen aniones mediante interacciones carga-carga. Existen también algunos ejemplos de moléculas neutras, normalmente poliaminas, capaces de formar complejos con aniones mediante enlaces de hidrógeno.

2.5.1. Katapinandos, aza-coronas y criptandos

Los primeros receptores para aniones, descritos como tales, son los *katapinandos* (del griego *katapino* que significa engullir), sintetizados por C. H. Park y H. E. Simmons en 1968. En la figura 2.14 se muestran las diferentes conformaciones posibles en estos *hosts* y cual interviene (*in-in*) en la complejación de aniones.

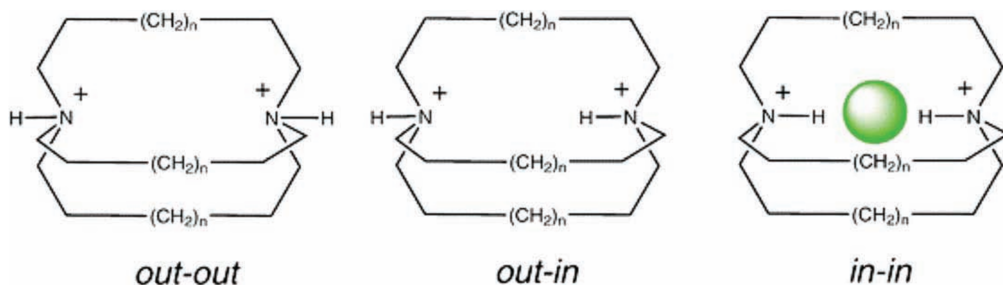


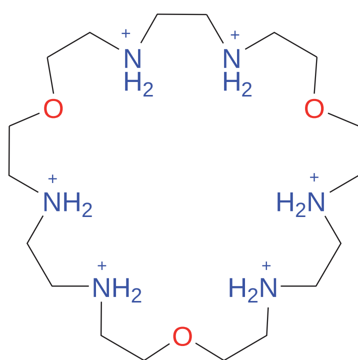
Figura 2.14. Conformaciones de los katapinandos

Bastante posteriores son los *aza-corona poliprotonados*, por ejemplo, para la interacción del hexacatión de aza-corona (Figura 2.15) con el tetraanión del trifosfato de adenosina (ATP), un huésped aniónico de gran interés biológico, se obtienen valores de constantes de estabilidad experimentales en el rango de 10^4-10^6 M^{-1}, lo que indica una complejación del tetraanión bastante fuerte. La desventaja de los receptores de este tipo es la baja selectividad, ya que la fuerza de interacción depende principalmente de las cargas totales del huésped y receptor, y es poco sensible a su geometría.

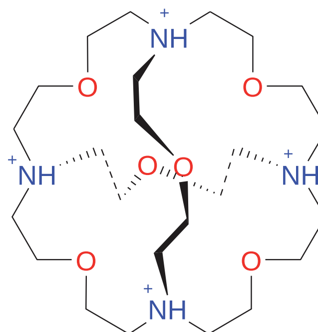
Los receptores con grupos catiónicos, con un arreglo complementario a los grupos aniónicos del huésped logran mayor selectividad. Un ejem-

plo de ello es el criptando macrotricíclico tetraprotonado de la Figura 2.15, que puede ser considerado el resultado de la fusión de cuatro anillos de triaza[18]corona-6 y que posee una forma perfectamente esférica, habiendo sido por ello denominado «balón de fútbol». Es un receptor tetraédrico que se une a aniones tales como el Cl^-, mediante la formación de enlaces de hidrógeno con los átomos de nitrógeno protonados e interacciones electrostáticas con los átomos de oxígeno, más fuertemente que los katapinandos. Además, la selectividad hacia el Cl^- es 50 veces mayor que hacia el Br, resultado de una mayor preorganización, su mayor carga positiva y un mayor número de centros enlazantes.

Se trata de una molécula muy versátil, ya que dependiendo del pH del medio puede formar también complejos como *host* neutro con cationes (en particular NH_4^+) y en su forma diprotonada con moléculas neutras como el agua.



Hexacatión de un aza-corona
log K (ATP^{4-}) = 4-6



Criptando macrotricíclico
log K (metanol, Cl^-) > 4

Figura 2.15. Aza-coronas protonados

2.5.2. Receptores guanidinio

El diseño de anfitriones que incorporan grupos guanidinio en su estructura ha dado resultados muy satisfactorios para la complejación tanto de aniones inorgánicos como orgánicos. Debido a su alta basicidad, los grupos guanidinio se encuentran totalmente protonados y son dadores de enlace de hidrógeno en un amplio rango de pH.

Así, el compuesto 1,3-bisguanidiniobenceno (Figura 2.16) exhibe un excelente efecto cooperativo hacia los fosfodiesteres ($R_2O_2PO_2^-$) con constantes de enlace *K* en acetonitrilo de 5 10^4 M^{-1} y actúa también como catalizador en reacciones de transesterificación, aumentando hasta 300 veces la velocidad de la misma.

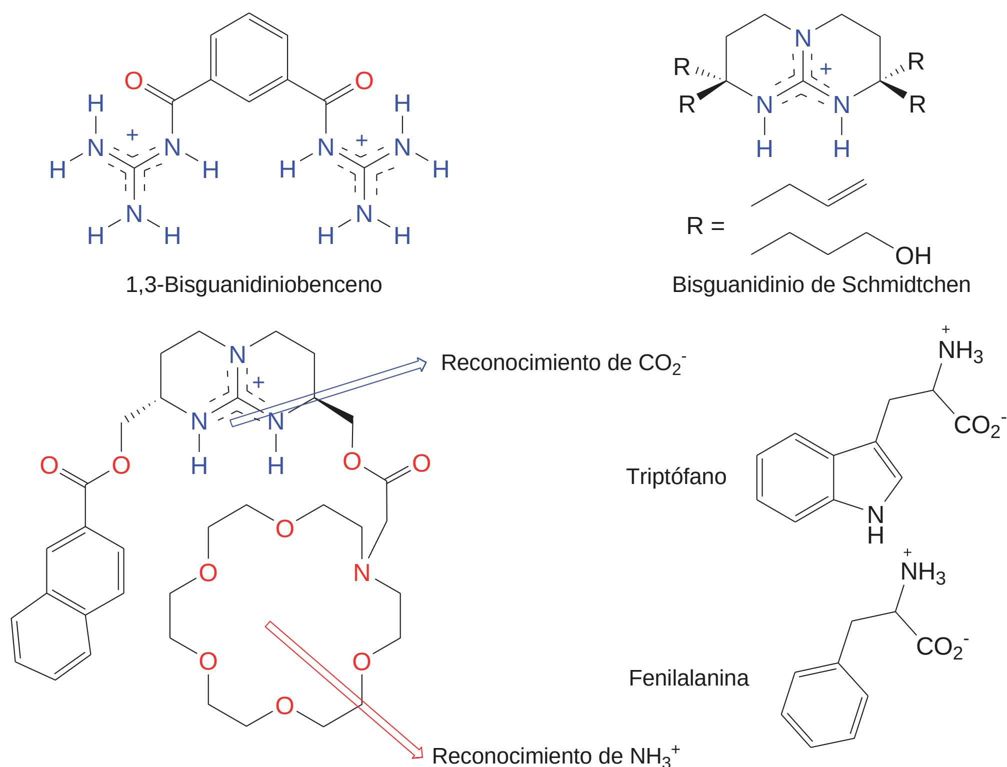


Figura 2.16. *Hosts* con grupos guanidinio y un ejemplo de receptor ditópico

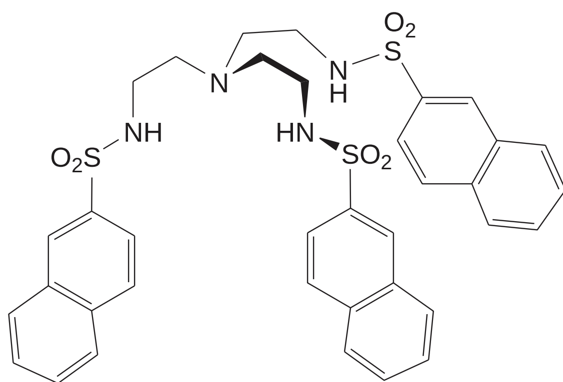
En 1980 el guanidinio bicíclico de Franz P. Schmidtchen supuso un punto de inflexión en el desarrollo de *hosts* para aniones basados en dicho grupo. La presencia de un esqueleto hidrocarbonado reduce dramáticamente la solvatación del guanidinio y aumenta su lipofilia, permitiendo la obtención de complejos, como por ejemplo con el anión *p*-nitrobenzoato, con constantes de enlace *K* del orden de 10^5 M^{-1} en cloroformo.

El *host* con grupos β-naftoato y aza[18]corona-6 permite el reconocimiento ditópico de los grupos funcionales carboxilato y NH_3^+ de aminoácidos, como el triptófano y la fenilalanina.

2.5.3. Aminas, amidas y pirroles

El reconocimiento de aniones por un receptor no iónico mediante formación de enlaces de hidrógeno también es posible en medios no acuosos. Estos receptores poseen en su estructura grupos dadores de protones, como aminas, amidas, ureas o anillos de pirrol, los cuales convergen sobre el anión incluido. En la figura 2.17 se muestran dos ejemplos típicos de receptores que emplean este tipo de interacción intermolecular.

El derivado de tris(aminoetil)amina o tren, presenta tres enlaces de hidrógeno convergentes y los anillos de naftaleno ejercen interacciones de apilamiento π-π, permitiendo la formación de un complejo con el anión $H_2PO_4^-$, con un valor para la constante de enlace en acetonitrilo de 1,4 10^4 M^{-1} .



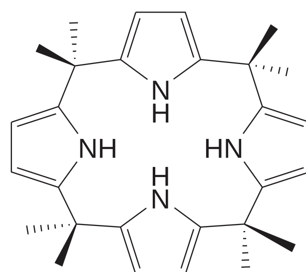


Figura 2.17. *Hosts* con grupos dadores de hidrógeno

El calix[4]pirrol, así nombrado por su parecido con los calix[4]arenos y que constituye el núcleo de las porfirinas, adopta una conformación 1,3-alternada que se modifica a la conformación cono, parecida a la de los calixarenos, cuando forma complejos con aniones. Posee una cavidad pequeña que solo permite encapsular al anión F^-, con una constante de enlace del orden de 10^4 M^{-1} en cloroformo. Sin embargo, gracias a los cuatro NH de los anillos de pirrol, forma también complejos con otros aniones que se sitúan fuera de la cavidad, a distancias de enlaces de hidrógeno. Existe una amplia serie de receptores de aniones basados en el motivo polipirrol con cavidades mas grandes, para conseguir selectividad hacia otros aniones.

2.6. INGENIERÍA DE CRISTALES

Todos los cristales de compuestos orgánicos, y algunos de inorgánicos, se forman a través de la asociación de moléculas, cationes o aniones por fuerzas intermoleculares, y pueden en principio considerarse como supramoléculas gigantes con estructura periódica. Los cristales son objetos macroscópicos que presentan propiedades determinadas.

Gracias al desarrollo de la química supramolecular, se ha introducido el uso del concepto del reconocimiento molecular para el ajuste predecible de las unidades estructurales a partir de las cuales se construye la red cristalina, y de ahí la creación de estructuras cristalinas con propiedades a la carta.

De esta manera surgió la *ingeniería de cristales* definida como «la comprensión de las interacciones intermoleculares en el contexto del empaquetamiento de los cristales y el empleo de este conocimiento en el diseño de nuevos sólidos con propiedades físicas y químicas deseadas». Las propiedades deseadas de un sólido cristalino pueden ser muy diferentes, incluyendo, por ejemplo, la presencia de poros, jaulas o canales de tamaño definido para la absorción selectiva de moléculas huéspedes; propiedades magnéticas, ópticas, etc.

La cristalización es un proceso de autoensamblaje en el que los componentes de un cristal, denominados *sintones supramoleculares o cristalinos*, deben encontrarse y reconocerse en disolución para conseguir una orientación óptima en un periodo de tiempo relativamente corto. Se trata de un fenómeno de no-equilibrio en el que intervienen tanto factores cinéticos como termodinámicos. La estructura cristalina final es función en muchos casos de las condiciones de cristalización, por ejemplo, las formas polimórficas no son más que cristales con los mismos componentes pero empaquetamientos diferentes. Las estructuras que se forman más rápidamente predominarán sobre las más estables.

Es importante destacar que en disolución la formación de complejos o agregados supramoleculares se trata de una reacción de equilibrio controlada termodinámicamente, en la que los componentes son capaces de seleccionar entre una amplia variedad de estructuras posibles hasta encontrar aquella de máxima estabilidad. El tiempo disponible para la reacción es infinito y los errores de ensamblaje pueden ser rectificados mediante etapas de descomplejación y recomplejación.

Entre los sintones supramoleculares o elementos estructurales que realizan el reconocimiento molecular entre las moléculas que forman la red cristalina se encuentran algunos basados en interacciones intermoleculares muy débiles, como C–H···O o C–H···N, que casi no contribuyen al reconocimiento molecular en disolución. Las interacciones de menor energía que las energías de movimiento térmico de translación y rotación no son significativas en fase líquida y gaseosa, pero en fase cristalina estos movimientos desaparecen y las interacciones de energías aun muy bajas contribuyen de manera notable.

Un ejemplo lo constituye la estructura del sintón obtenido al cristalizar a la 1,3-ciclohexanodiona en benceno (Figura 2.18), donde los enlaces de hidrógeno C=O···H–O con distancias O···O de 2,579 Å son aparentemente los que dominan la estructura. Sin embargo, el [6]ciclámero solo se forma en presencia de benceno que interviene en seis interacciones C–H···O de 3 Å en las que los enlaces C–H están dirigidos hacia el par de electrones *sin* del átono de oxígeno de la cetona. La cristalización en otros disolventes como tiofeno, piridina, alcoholes o cloroformo da lugar a estructuras lineales, que no incluyen moléculas del huésped.

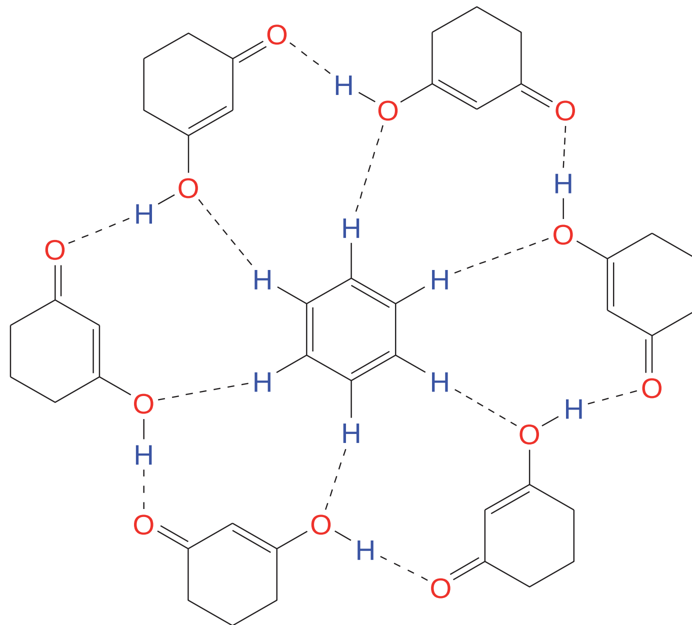


Figura 2.18. Estructura del ciclámero (ciclohexanodiona)$_6$-benceno

El modo de operación de los sintones supramoleculares se ilustra en la Figura 2.19, donde se utilizan como ejemplo las estructuras formadas por ácidos carboxílicos con diferente número de grupos carboxilo. El ácido benzoico con solo uno, forma un dímero considerado como cero-dimensional. El ácido tereftálico puede formar una cadena unidimensional. El ácido trimésico con tres grupos carboxilo da lugar a una estructura policíclica plana bidimensional, mientras que el ácido 1,3,5,7-tetracarboxílicoadamantano es capaz de originar una estructura tridimensional.

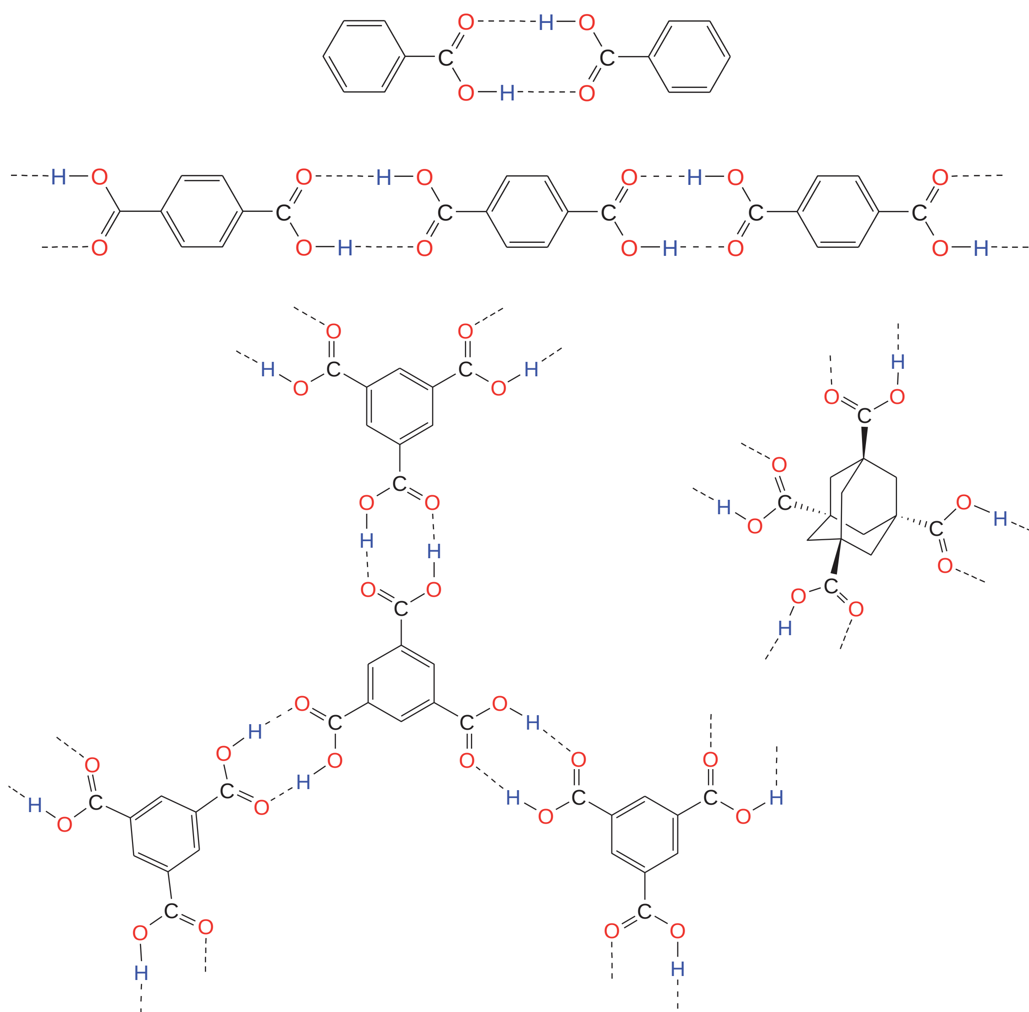


Figura 2.19. Redes cristalinas de diferentes dimensiones a partir de ácidos carboxílicos

2.7. DISPOSITIVOS MOLECULARES INTELIGENTES

La miniaturización de diferentes dispositivos, empleados en la construcción de máquinas, ordenadores o en comunicaciones, con el objetivo último de alcanzar el nivel molecular, es un área de investigación tecnológica muy desarrollada, a la que sin duda ha contribuido el conocimiento de la química supramolecular.

Un *dispositivo molecular* es una molécula o agregado molecular que adquiere o pierde alguna función, o realiza alguna operación, como resultado de la acción de un factor externo, tal como óxido-reducción, irradiación con luz, interacción con alguna sustancia, protonación o desprotonación, etc.

El dispositivo más sencillo es un interruptor molecular y en la Figura 2.20 se presenta un ejemplo clásico de un interruptor basado en la transformación de la unidad de ditienileteno entre dos estados estables en función de la longitud de onda de la radiación incidente.

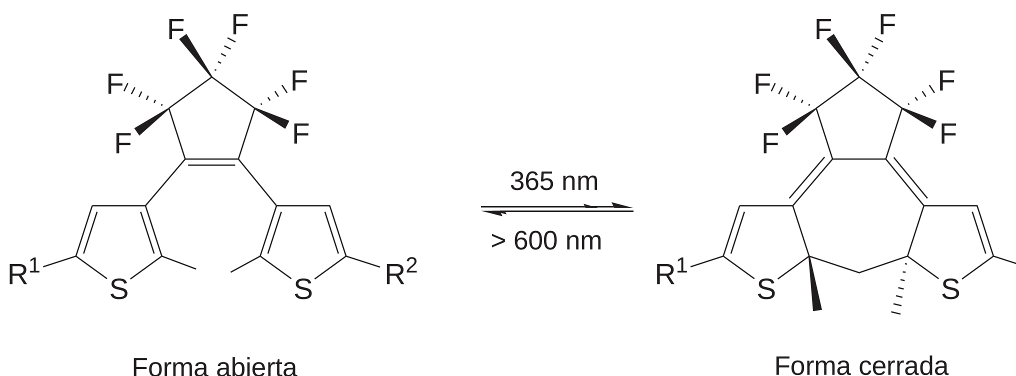


Figura 2.20. Los dos estados estables de la unidad de ditienileteno

El interruptor funciona simplemente alternando irradiación ultavioleta (300 nm) y visible (> 600 nm). Además, los dos estados tienen diferentes propiedades electrónicas, la forma cerrada contiene un sistema π conjugado a través del puente permitiendo la comunicación electrónica entre los sustituyentes R^1 y R^2 y en cambio la forma abierta la interrumpe, aislando a dichos grupos. El equipo del profesor Lehn ha desarrollado ampliamente las aplicaciones de este interruptor mediante una cuidadosa selección de R^1 y R^2.

Se conocen numerosos dispositivos de mayor complejidad, pero solo destacaremos para terminar aquellos en los que los agregados supramoleculares realizan un movimiento mecánico inducido por algún factor externo, denominados *máquinas moleculares*.

Los catenanos y rotaxanos (Figura 2.21) han sido de particular importancia en el desarrollo de dispositivos de esta clase. Un *catenano* es una estructura molecular mecánicamente entrelazada que está compuesta de dos o más macrociclos. Los anillos entrelazados no se pueden separar sin romper los enlaces covalentes de los macrociclos. En los *rotaxanos* la molécula que se inserta a través del macrociclo tiene forma de mancuerna. Existen otros ejemplos de arquitecturas moleculares mecánicamente entrelazadas como los *nudos moleculares* y los *anillos moleculares de Borromeo*.

Las arquitecturas moleculares mecánicamente entrelazadas son uniones o conexiones entre moléculas que no se producen a través de los enlaces químicos o fuerzas intermoleculares tradicionales, sino como consecuencia de su topología o forma. Esta unión entre las moléculas es similar al modo en que se unen las llaves a un llavero. Las llaves no están directamente conectadas con el anillo del llavero, pero no pueden ser separadas sin romper dicho anillo.

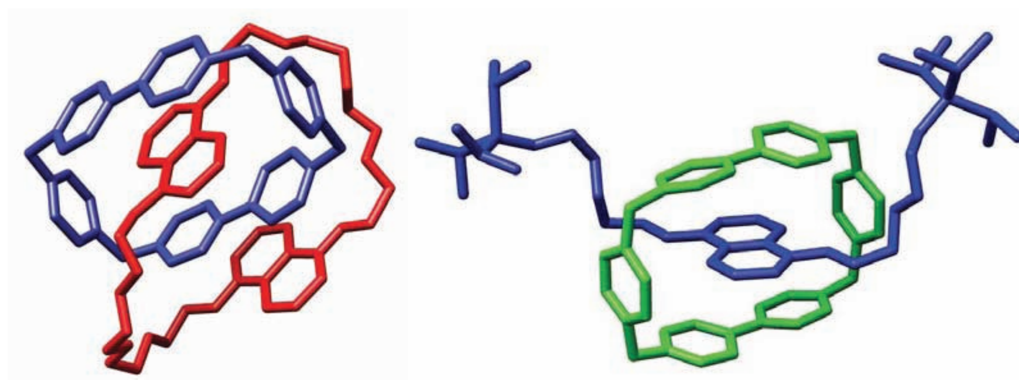


Figura 2.21. Catenanos y rotaxanos

En la Figura 2.22 se representan de manera esquemática los movimientos de los catenanos y rotaxanos, sobre los que se basan las máquinas moleculares En rotaxanos el macrociclo puede deslizarse a lo largo del eje de la molécula en forma de mancuerna de un sitio a otro (a), o puede girar al-

rededor del eje como una rueda (b). Controlar la posición del macrociclo permite que el rotaxano pueda funcionar como interruptor molecular pues cada posible situación del macrociclo correspondería a un estado diferente. En los catenanos uno de los macrociclos gira alrededor del otro (c). Estas máquinas se pueden manipular tanto por agentes químicos como fotoquímicos.

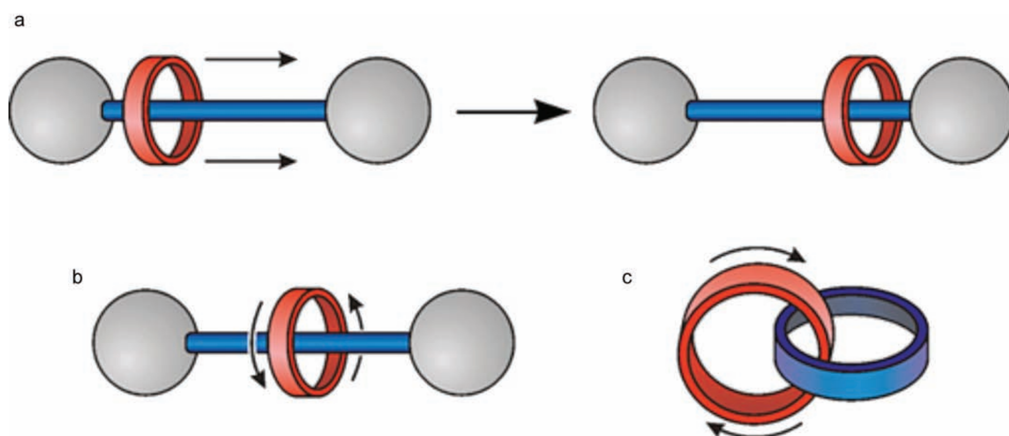


Figura 2.22. Movimientos de los rotaxanos y catenanos

CONCEPTOS CLAVE

1. La química supramolecular es la química de los enlaces intermoleculares no-covalentes, que estudia la estructura y funciones de entidades formadas por dos o más especies químicas.

2. Las especies químicas constituyentes de un compuesto o entidad supramolecular no se enlazan covalentemente entre sí, interaccionan mediante fuerzas intermoleculares dinámicas y reversibles. El efecto cooperativo de las interacciones no-covalentes, de baja energía o débiles, es responsable de la estabilidad de una supramolécula.

3. Los receptores (*hosts*) cavitandos son moléculas grandes que poseen una cavidad intramolecular o grieta, capaces de incluir a un ligando o sustrato (*guest*), formando los compuestos supramoleculares que se conocen como cavitatos cuya entidad se mantiene en disolución y en estado sólido.

4. Los receptores (*hosts*) clatrandos son moléculas que albergan ligandos o sustratos (*guests*) en cavidades o huecos existentes entre ellas, originando los compuestos supramoleculares llamados clatratos que se mantienen únicamente en fase sólida o cristalina.

5. Los compuestos supramoleculares denominados agregados autoensamblados, están constituidos por moléculas de tamaño similar que se asocian mediante interacciones no-covalentes. Existen en disolución y en estado sólido y a ninguna de las moléculas constituyentes se les puede aplicar el término *host* o *guest*.

6. Los receptores son *monotópicos* cuando la molécula del *host* interactúa con un solo *guest*, que es el caso más común y *politópicos* cuando dos o más subunidades del *host* se unen a varios *guests* para formar el compuesto supramolecular.

7. La constante de enlace *K*, definida como la constante de equilibrio de la reacción entre un *host* y un *guest* para formar el complejo supramolecular *host*-*guest* de estequiometria 1:1, es una medida de su estabilidad termodinámica. Valores grandes de *K* indican una elevada concentración del complejo, o lo que es lo mismo una alta afinidad entre *host* y *guest*.

8. La selectividad termodinámica se define como el cociente entre las constantes de enlace K_{G1} y K_{G2} de un receptor o anfitrión (*host*) determinado hacia dos huéspedes (*guests*) diferentes G1 y G2. Un *host* debe ser capaz de discriminar entre especies, es decir mostrar un alto grado de selectividad hacia el *guest* objetivo o diana.

9. La afinidad máxima entre un *host* y un *guest* ocurre cuando son complementarios, es decir cumplen el principio de óptima complementariedad. Para alcanzar dicho principio un factor de gran importancia es la preorganización, o sea que el *host* posea o adquiera la conformación adecuada para ser complementario del *guest*.

10. La ingeniería de cristales es la comprensión de las interacciones intermoleculares no-covalentes en la asociación de moléculas, cationes o aniones para formar cristales, o reconocimiento molecular en estado sólido, para predecir el ajuste de las unidades estructurales que constituyen la red cristalina y diseñar nuevos sólidos con propiedades físicas y químicas a la carta.

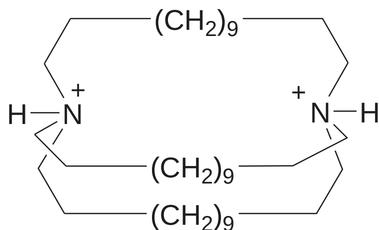
11. Los dispositivos moleculares son agregados moleculares que adquieren o pierden alguna función, o realizan alguna operación, como resultado de la acción de un factor externo.

EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

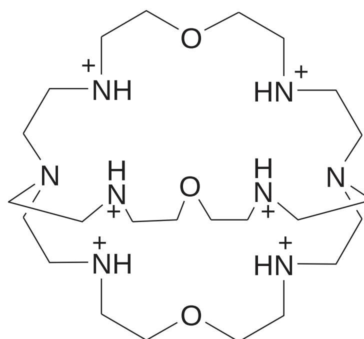
1. La hidrogenación con H_2/Pd del dibenzo[18]corona-6 (Figura 2.6) originalmente sintetizado por Pedersen da lugar al compuesto saturado diciclohexil[18]corona-6, que posee cinco isómeros: *cis-sin-cis*, *cis-anti-cis*, *trans-sin-trans*, *trans-anti-trans* y *cis-trans*. Representar sus estructuras e indicar si son interconvertibles o no.

2. Los valores del logaritmo de las constantes de enlace, log *K*, para la complejación con el catión Na^+ en metanol a 25 ºC de los isómeros *cis-sin-cis*, *cis-anti-cis*, *trans-sin-trans*, *trans-anti-trans* del diciclohexil[18]corona-6 son 4,08, 3,68, 2,99 y 2,52, respectivamente. Sugerir las razones que justifican esta variación teniendo en cuenta que el valor de log *K* para el [18]corona-6, en las mismas condiciones es 4,3.

3. El enlace del *host* diazabiciclo[9.9.9]nonacosano, un katapinando, hacia aniones es mucho más débil que para el *host* azacriptando, un bis(tren) hexaprotonado. Indicar qué factores son responsables de dicha observación experimental.

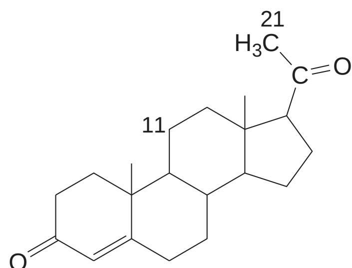


Diazabiciclo[9.9.9]nonacosano



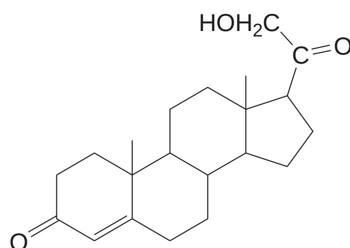
Bis(tren) hexaprotonado

4. A partir de las constantes de enlace *K* a 25 °C de tres esteroides **A-C**, con un receptor glucocorticoide, calcular los incrementos de energía libre ΔG de los grupos OH en las posiciones 11 y 21. Determinar, a partir de dichos incrementos, la constante de enlace del esteroide **D**. A partir de los resultados obtenidos discutir cuál es el esteroide que presenta mayor afinidad hacia dicho receptor.



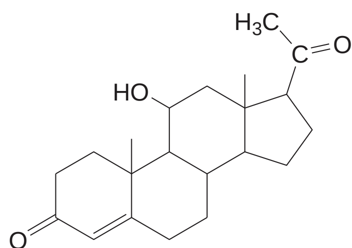
A

log K = 6,85



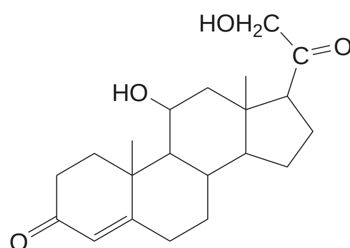
B

log K = 7,36



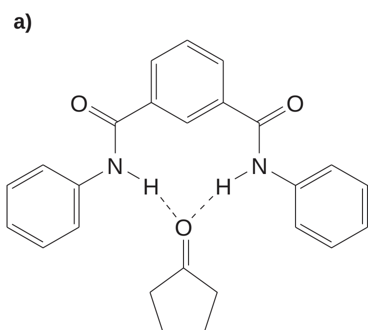
C

log K = 7,51

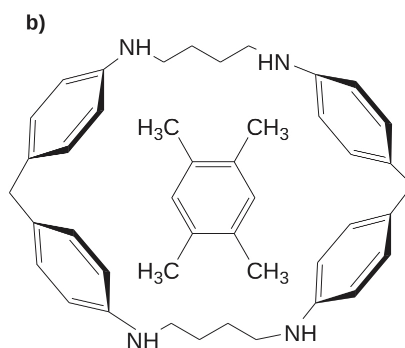


D

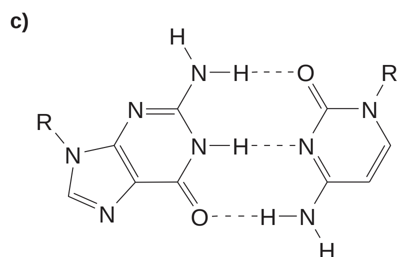
5. Indicar a qué tipo de compuesto supramolecular, cavitato, clatrato o agregado autoensamblado, pertenece cada una de las siguientes estructuras. Identificar la principal interacción no-covalente que interviene en su formación.



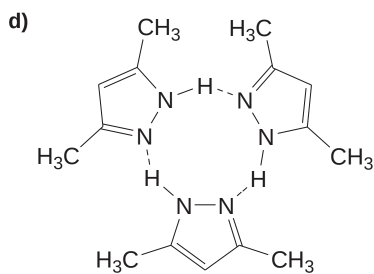
Una bisamida y ciclopentanona



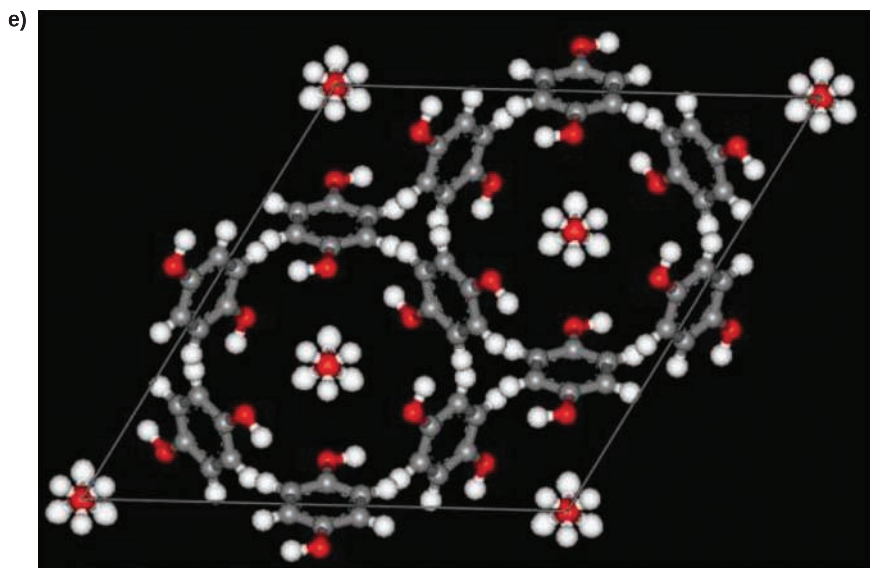
Un ciclofano y dureno



Par de bases: guanina y citosina



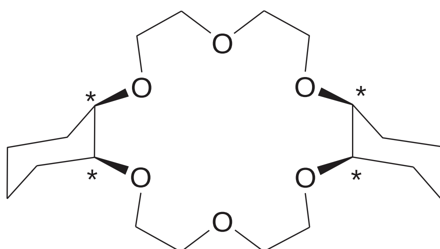
Tres moléculas de 3,5-dimetilpirazol



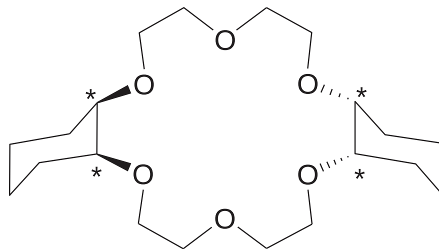
Hidroquinona y metanol (3:1)

SOLUCIONES A LOS EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

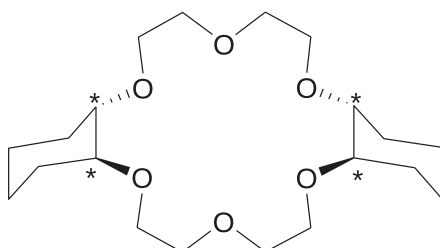
1. Las estructuras de los cinco isómeros son:



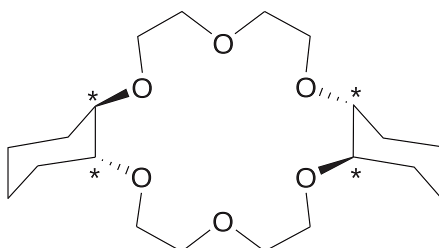
cis-sin-cis



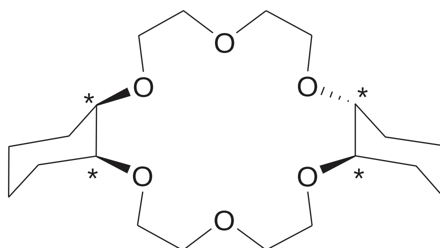
cis-anti-cis



trans-sin-trans



trans-anti-trans



cis-trans

Son distintos por poseer configuraciones absolutas diferentes en los cuatro carbonos quirales, que se representan con un asterisco. No son interconvertibles sin rotura de enlaces, se trata de diastereoisómeros y no de isómeros conformacionales.

2. Los valores de log *K*, para la complejación con el catión Na^+ en metanol a 25 °C de los isómeros *cis-sin-cis*, *cis-anti-cis*, *trans-sin-trans*, *trans-anti-trans* del diciclohexil[18]corona-6 de 4,08, 3,68, 2,99 y 2,52,

son menores que el valor de 4,3 para el [18]corona-6, es decir, que enlazan menos fuertemente a dicho catión.

Los anillos de ciclohexilo imponen restricciones a las orientaciones de los grupos dadores de electrones del macrociclo, es decir preorganizan los átomos de oxígeno. Por otro lado, ejercen un efecto electrónico sobre la basicidad de los átomos de oxígeno haciéndoles más ricos en electrones.

El pequeño tamaño del catión Na^+ (radio iónico= 0,95 Å) implica que los éteres corona deben distorsionarse significativamente para optimizar las distancias de enlace Na-O. Las restricciones impuestas por los anillos de ciclohexilo limitan la distorsión. Así, el isómero *cis-sin-cis* es el geométricamente más adecuado para incluir al Na^+, pero incluso este compuesto es menos flexible que el éter [18]corona-6.

En conclusión, los diciclohexilderivados no enlazan tan fuertemente al catión Na^+ debido a su preorganización desfavorable o negativa, a pesar de poseer mejores propiedades dadoras.

3. El katapinando es más estable en la conformación *out-out* (Figura 2.14), es decir, que no está preorganizado, y la energía libre de enlace con el anión se reduce debido a la desestabilización estérica que tiene lugar al pasar a la conformación *in-in*. Además las cadenas hidrocarbonadas son peores dadores de hidrógeno que los fragmentos oxietileno del bis(tren).

   El aza-criptando bis(tren) es un macrobiciclo cilíndrico y en su forma hexaprotonada (los átomos de nitrógeno del puente no se protonan, ya que su basicidad se reduce dramáticamente debido a la proximidad de las aminas secundarias protonadas) se une fuertemente a aniones como F^-, Cl^-, Br o N^{3-} (azida). A continuación, se muestra la estructura del complejo formado por el bis(tren)-$6H^+$ con el anión Cl^-.



Los complejos formados en este último caso son más estables porque el *host* está mejor preorganizado y la forma de la cavidad es más adecuada.

4. Dado que las constantes de enlace están relacionadas con la energía libre del proceso de asociación mediante la ecuación de Gibbs, $\Delta G^o = -RT \ln K$ y $\ln K = 2{,}303 \log K$, los incrementos de energía correspondientes a la introducción de los sustituyentes OH, vendrán dados por:

   $R = 8{,}314\ J\ K^{-1}$ y $T = 298\ K$

   $\Delta G^o(21\text{-OH}) = -2{,}303\ RT\ (\log K_{\mathbf{B}} - \log K_{\mathbf{A}}) = -2{,}303\ RT\ (0{,}51) = -2{,}9\ kJ\ mol^{-1}$

   $\Delta G^o(11\text{-OH}) = -2{,}303\ RT\ (\log K_{\mathbf{C}} - \log K_{\mathbf{A}}) = -2{,}303\ RT\ (0{,}66) = -3{,}77\ kJ\ mol^{-1}$

   $\Delta G^o_{\mathbf{A}} = -2{,}303\ RT \log K_{\mathbf{A}} = -39{,}1\ kJ\ mol^{-1}$

   $\Delta G^o_{\mathbf{D}} = \Delta G^o_A + (-2.90) + (-3.77) = -45{,}77\ kJ\ mol^{-1}$

   $\log K_{\mathbf{D}} = 8{,}0$

   Es decir, que el esteroide **D** se une más fuertemente que **A**, **B** y **C**, al receptor glucocorticoide. O en otros términos, presenta una mayor afinidad hacia ese receptor.

5. **a)** Un cavitato; interacción de enlace de hidrógeno.

   b) Un cavitato; interacciones π-π.

   c) Un agregado autoensamblado, corresponde al modelo del ADN de Watson-Crick para el par de bases guanina-citosina; interacciones de enlace de hidrógeno.

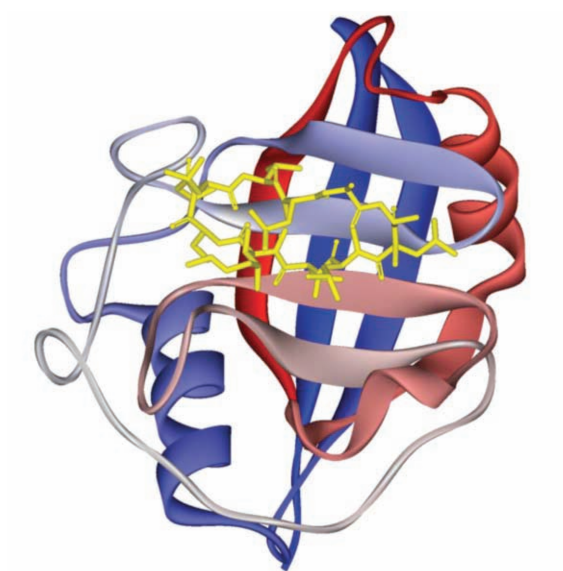
   d) El trímero formado por tres moléculas de 3,5-dimetilpirazol es el sintón supramolecular que da lugar a la red cristalina; interacción de enlace de hidrógeno.

   e) Un clatrato, las moléculas de hidroquinona dejan huecos en su estructura en los que se sitúan las moléculas de metanol; interacciones de enlace de hidrógeno.

TEMA 3

ENZIMAS EN QUÍMICA BIOORGÁNICA

Marta Pérez Torralba



La ciclofilina A junto con una ciclosporina (en amarillo)

SUMARIO

OBJETIVOS

General

Comprender la función y el uso de las diferentes enzimas como catalizadores químicos.

Específicos

1. Conocer las propiedades de las enzimas como catalizadores.
2. Diferenciar los distintos tipos de enzimas dependiendo de la clase de reacción que catalicen.
3. Entender los principios básicos de la catálisis enzimática.
4. Conocer las diferentes interacciones no covalentes que tienen lugar entre el sustrato y el centro activo de la enzima.
5. Estudiar la quimio-, regio- y estereoselectividad de las enzimas.
6. Describir los principales tipos de catálisis enzimática.
7. Analizar los factores que influyen de manera directa sobre la actividad enzimática.
8. Conocer cómo actúan las enzimas multifuncionales.
9. Estudiar el uso de las enzimas en síntesis orgánica y conocer cuales son los biocatalizadores más utilizados en este campo.
10. Conocer el uso de las enzimas artificiales.

3.1. INTRODUCCIÓN

La gran mayoría de las reacciones químicas que se producen en los seres vivos ocurren de forma regulada, es decir, su progreso se ajusta en cada momento a las necesidades metabólicas de la célula. Para que esto sea posible, es necesario que la velocidad a la que suceden tales reacciones pueda ser modificada, de modo que se retarden, cuando los productos de reacción no sean necesarios, o que por el contrario, se aceleren, cuando haga falta obtener mayor cantidad de productos.

El control de la velocidad de una reacción química puede llevarse a cabo mediante el uso de catalizadores, los catalizadores biológicos por excelencia son las enzimas. En general, las enzimas son proteínas que catalizan las reacciones bioquímicas (biotransformación) del metabolismo modificando la velocidad de dichas reacciones. Las enzimas difieren de los catalizadores químicos en los siguientes aspectos:

- Mayor velocidad de reacción: son capaces de aumentar la velocidad de las reacciones mucho más que cualquier catalizador no biológico. Se ha podido comprobar que estos aumentos son de entre 10^4 y 10^{17}, produciéndose por ejemplo, un aumento en la velocidad de 10^6 cuando interviene la corismato mutasa y de 10^{10} para la hexoquinasa.

- Condiciones de reacción suaves: las reacciones catalizadas por enzimas ocurren a temperaturas entre 20 y 60 ºC, a presión atmosférica y pH cercano a la neutralidad. De esta manera, se minimiza la aparición de productos secundarios, debido a descomposiciones, isomerizaciones o racemizaciones que suelen ocurrir en condiciones más extremas de temperatura, presión y pH.

- Gran especificidad de reacción: las enzimas son altamente específicas ya que cada una de ellas induce la transformación de un solo tipo

de sustancia o sustrato y no de otras que se puedan encontrar en el medio de reacción.

- Capacidad de regulación: las actividades catalíticas de muchas enzimas varían en respuesta a las concentraciones de sustancias distintas de sus sustratos. Entre los mecanismos de estos procesos reguladores se incluyen: control alostérico, modificación covalente de las enzimas y variación de las cantidades de enzimas sintetizadas.

Mientras que en muchos casos las enzimas están formadas exclusivamente por aminoácidos, en otros, la proteína se encuentra asociada a otras moléculas, denominadas cofactores, que resultan imprescindibles para el desarrollo de su función. Los cofactores pueden ser iones metálicos (por ejemplo, Fe^{2+}, Mg^{2+}, Zn^{2+}) o una molécula orgánica más o menos compleja que se denomina *coenzima* (ver Tema 4). La enzima completa junto a su cofactor se denomina *holoenzima* y su parte exclusivamente proteica *apoenzima* (Figura 3.1).

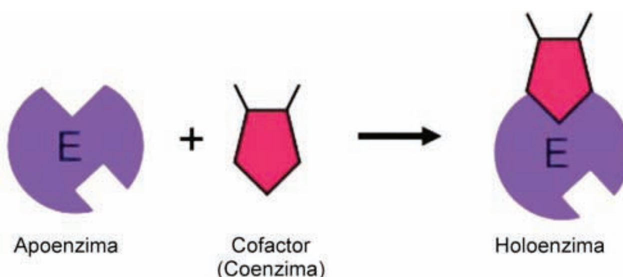


Figura 3.1. Complejo *enzima-coenzima: holoenzima*

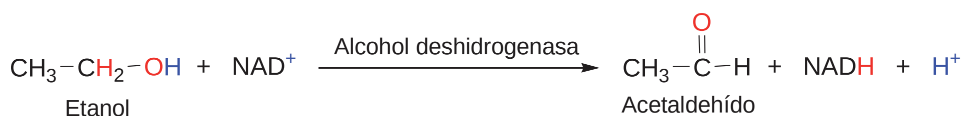
3.2. NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN DE LAS ENZIMAS

Las enzimas se nombran y clasifican de acuerdo al tipo de reacción que catalizan. Por lo general, se añade el sufijo *–asa* al nombre del sustrato sobre el que actúa la enzima (ej.: ureasa) o al nombre del tipo de reacción que cataliza (ej.: hidrolasa). Esta práctica condujo a que se utilizaran dos nombres diferentes para la misma enzima o, por el contrario, que se usara el mismo nombre para varias de ellas.

La Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular ha desarrollado una nomenclatura para identificar a la enzima basada en los denominados números 'EC' (del inglés *Enzyme Commission*). De este modo,

cada enzima queda registrada por una secuencia de cuatro números precedidos por las letras 'EC'. El primer número indica a cuál de las seis clases pertenece la enzima, el segundo se refiere a distintas subclases dentro de cada grupo, el tercero y el cuarto se refieren a los grupos químicos específicos que intervienen en la reacción. Las seis categorías principales de enzimas son las siguientes:

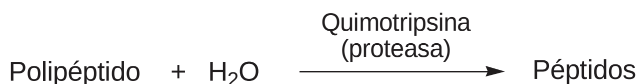
1. **Oxidorreductasas** (EC 1). Catalizan una amplia variedad de reacciones de óxido-reducción. Utilizan coenzimas que también cambian su estado redox, como pueden ser los pares NADH/NAD^+, NADPH/$NADP^+$, FAD/$FADH_2$ o FMN/$FMNH_2$ y actúan intracelularmente. Este grupo incluye las enzimas denominadas comúnmente como deshidrogenasas, reductasas, oxidasas, oxigenasas, hidroxilasas y peroxidasas.



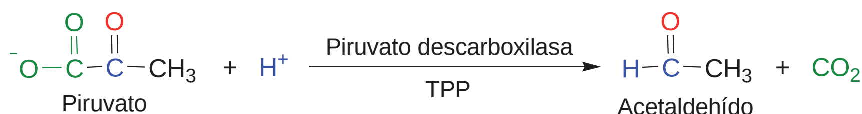
2. **Transferasas** (EC 2). Catalizan reacciones en las que hay una transferencia de grupos de una molécula a otra (transferencia de grupos amino, carboxilo, carbonilo, metilo, glicosilo, acilo o fosfato). Al igual que las oxidorreductasas se asocian a coenzimas y actúan solo intracelularmente. Entre los ejemplos se encuentran las transcarboxilasas, transmetilasas, transaminasas y quinasas.



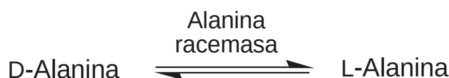
3. **Hidrolasas** (EC 3). Catalizan reacciones que implican la rotura hidrolítica de enlaces químicos, tales como C-C, C-O, C-N. La mayoría de las hidrolasas no necesitan coenzimas, muchas actúan extracelularmente y son suficientemente robustas como para resistir condiciones de reacción severas. Dentro de este grupo de enzimas, destacan las amidasas, esterasas, proteasas, nitrilasas y especialmente las lipasas, que catalizan la hidrólisis de amidas, ésteres, péptidos, nitrilos y triglicéridos, respectivamente.



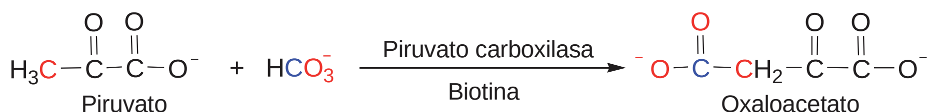
4. **Liasas** (EC 4). Catalizan la rotura de enlaces (C-C, C-O, C-N, C-S C-X, etc.) pero no por hidrólisis ni oxidación. Destacan las descarboxilasas, aldolasas y deshidratasas. También pueden funcionar a la inversa, catalizando la formación de estos enlaces mediante la adición de un grupo al doble enlace. En el caso de formación de enlaces, estas enzimas no requieren energía de nucleósidos trifosfato y se denominan sintasas. Muchas actúan intracelularmente y algunas no necesitan coenzimas.



5. **Isomerasas** (EC 5). Transforman los sustratos de una forma isómera en otra. Ej.: epimerasas, racemasas y mutasas. La mayoría actúan intracelularmente y requieren el uso de cofactores.



6. **Ligasas** (EC 6). Catalizan la formación de enlace C-C, C-S, C-O y C-N. Son enzimas complejas de elevado peso molecular que actúan intracelularmente y precisan coenzimas. Generalmente, la energía requerida para la formación de enlace deriva de la hidrólisis del ATP. Las sintetasas y carboxilasas están en este grupo.



3.3. CATÁLISIS ENZIMÁTICA

Las enzimas actúan de acuerdo con los mismos principios generales que los demás catalizadores; aumentan la velocidad de las reacciones químicas combinándose transitoriamente con los reactivos, de manera que és-

tos, alcanzan un estado de transición con una energía de activación menor que el de la reacción no catalizada (Figura 3.2).

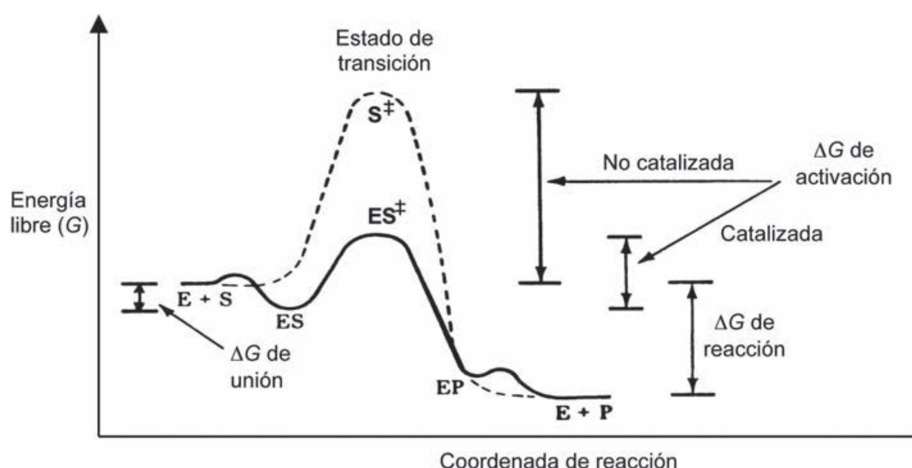


Figura 3.2. Diagrama de coordenadas de una reacción enzimática catalizada (trazo grueso) y sin catalizar (trazo discontinuo)

La actividad catalítica, para la mayoría de las enzimas está restringida a una zona pequeña de la molécula denominada centro activo. Tanto las enzimas naturales como las artificiales funcionan de acuerdo con el esquema cinético de Michaelis-Menten, que incluye dos etapas. La primera consiste en la formación de un complejo no covalente (ES) (reconocimiento molecular) entre la enzima (E) y el sustrato (S) y la segunda etapa consiste en la transformación química del complejo enzima-sustrato (ES), para dar lugar al producto (P) y la enzima libre (E) (Figura 3.3).

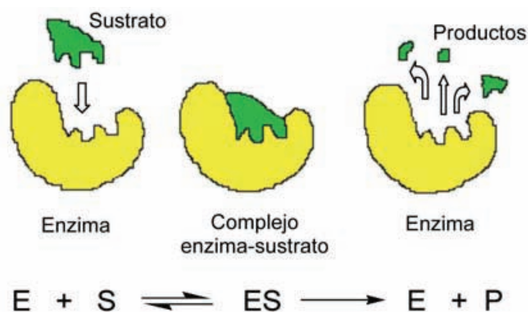


Figura 3.3. Esquema de una reacción enzimática

De acuerdo con la interpretación moderna de la catálisis enzimática en esta segunda etapa, el centro activo de la enzima todavía funciona como un receptor reconociendo al sustrato en el estado de transición de la reacción química. Por ello, se puede afirmar que las enzimas no son exactamente complementarias con sus sustratos sino más bien con las especies del estado de transición ($ES^{\ddagger}$), ya que es en este estado donde se establecen interacciones débiles adicionales energéticamente favorables.

Estos dos procesos de reconocimiento molecular, del estado inicial y del estado de transición del sustrato, aseguran la enorme eficiencia de la catálisis biológica en términos de selectividad y reactividad.

Si una enzima se une de manera preferente a un sustrato en su estado de transición, puede ocurrir que moléculas estables, que se asemejan por su geometría y su carga al estado de transición, sean inhibidores de la enzima, como por ejemplo ocurre en el caso de la corismato mutasa (Figura 3.4, ver Tema 9).

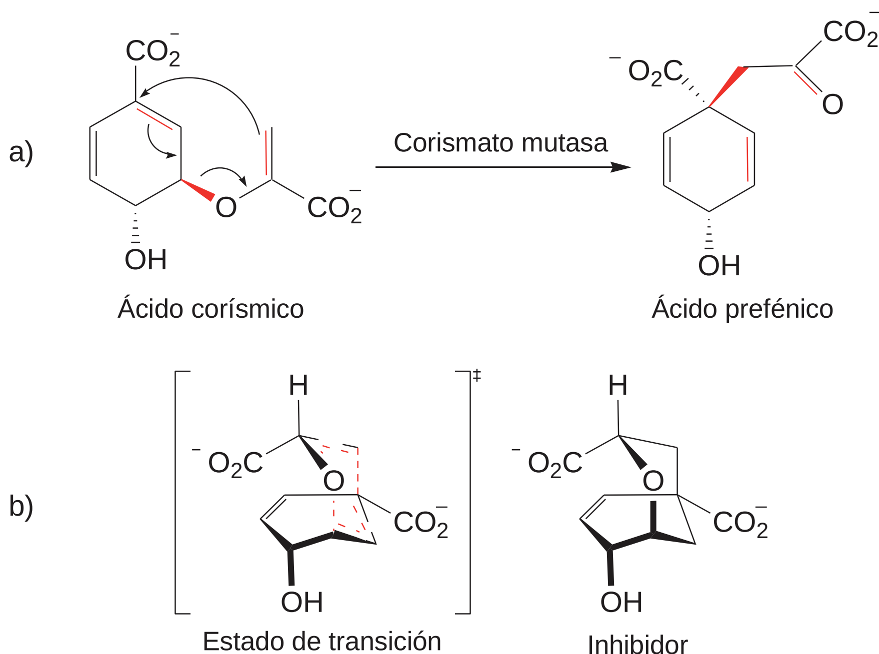


Figura 3.4. a) Reacción pericíclica que implica la formación de un estado de transición simple. b) Estado de transición para la reacción catalizada por la corismato mutasa y un inhibidor para esta enzima

La interacción enzima-sustrato se realiza a través de enlaces de naturaleza débil entre la molécula de sustrato y el centro activo (Figura 3.5). Cuanto mayor sea el número de estos enlaces, mayor será la especificidad de la enzima, y mayor también su capacidad de discriminar entre dos sustratos estructuralmente próximos. El centro activo de la enzima dispone de grupos funcionales que pueden modificar el medio ambiente del sustrato, por ejemplo, situándolo en un medio hidrófobo que produzca su desolvatación y que este cambio en su entorno posibilite la reacción. La complementariedad entre el centro activo y el sustrato provoca tensiones sobre la molécula de sustrato favoreciendo la aparición, o desaparición de enlaces que facilita su transformación en el producto.

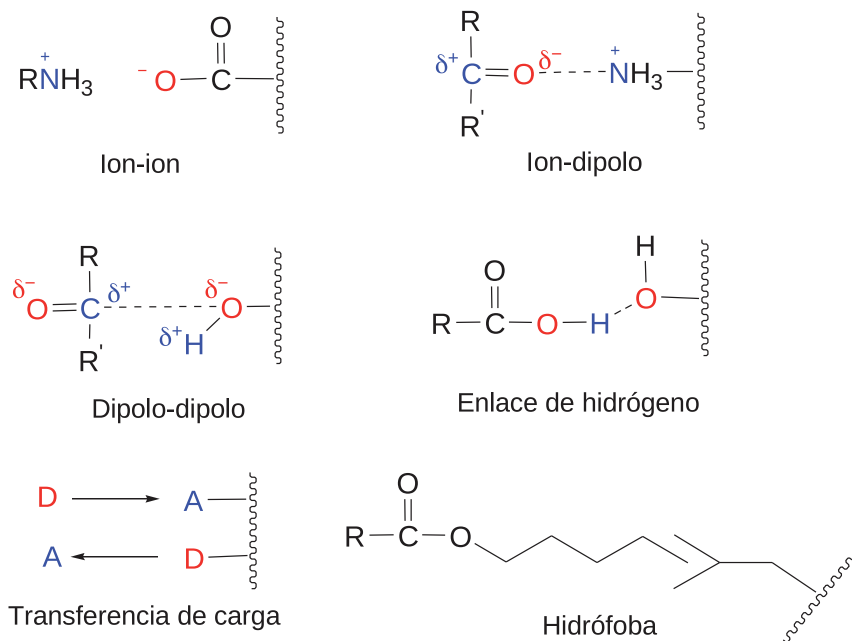


Figura 3.5. Interacciones no covalentes del complejo ES

3.3.1. Factores que afectan a la actividad enzimática

La capacidad catalítica de las enzimas radica principalmente en la integridad de su conformación proteica nativa, es por esto, que cambios en esta, suelen ir asociados a cambios en su actividad catalítica. Los factores que influyen de manera más directa sobre la actividad de una enzima son:

- **El pH:** las enzimas poseen grupos químicos ionizables (-COOH, -NH_2, -SH, etc.) en las cadenas laterales de sus aminoácidos. Según el pH del medio, estos grupos pueden tener carga positiva, negativa o neutra. Como la conformación de las proteínas depende, en parte, de sus cargas eléctricas, habrá un pH en el cual la conformación será la más adecuada para la actividad catalítica: *pH óptimo*. La mayoría de las enzimas son muy sensibles a los cambios de pH. Desviaciones de pocas décimas por encima o por debajo del pH óptimo pueden afectar su actividad. Por ejemplo, la ureasa tiene un pH óptimo de 7.
- **La temperatura:** en general, el aumento de temperatura acelera las reacciones químicas. Las reacciones catalizadas por enzimas siguen esta ley general. Sin embargo, las enzimas al ser proteínas experimentan desnaturalización y pérdida de actividad al superar una determinada temperatura. La temperatura a la cual la actividad catalítica es máxima se llama *temperatura óptima*.
- **La concentración del sustrato:** en una reacción enzimática, al incrementar la concentración de sustrato, para una concentración de enzima constante se produce un aumento en la velocidad de reacción. Si la concentración de sustrato es excesiva, la velocidad de reacción no aumentará, debido a que se produce una saturación de la enzima, cuyas moléculas se hallan todas en forma de complejo enzima-sustrato.
- **Presencia de inhibidores:** son sustancias que disminuyen la actividad de la enzima y pueden actuar de manera reversible o irreversible. Un *inhibidor irreversible* se une fuertemente a la enzima de tal forma que el tiempo de disociación es muy lento, esto puede ocurrir tanto por uniones covalentes como no covalentes. Por otro lado, los *inhibidores reversibles* se caracterizan por una rápida disociación del complejo enzima inhibidor. Los inhibidores reversibles se clasifican en competitivos, no competitivos y acompetitivos.

  —*Inhibidores competitivos*: compiten con el sustrato por ocupar el centro activo. Estas moléculas presentan una semejanza estructural con el sustrato que les permite situarse en el centro activo y bloquear la catálisis enzimática.

  —*Inhibidores no competitivos*: se unen a la enzima en puntos distintos al centro activo, su unión incapacita a la enzima para desarrollar su acción catalítica.

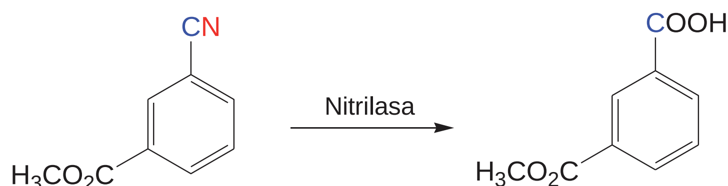
—*Inhibidores acompetitivos*: no presentan afinidad por la molécula de enzima libre, sino que se unen a la enzima cuando ésta se encuentra formando el complejo enzima-sustrato (ES), inhabilitándole para continuar el proceso y formar el producto.

3.3.2. Especificidad y selectividad de las enzimas

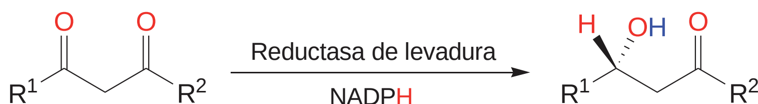
Las enzimas son muy específicas tanto en la unión con sustratos como en la catálisis de sus reacciones. La forma, la carga y las características hidrófilas/hidrófobas de las enzimas y de los sustratos, son las responsables de dicha especificidad. La apoenzima es la parte del sistema enzimático responsable de su especificidad.

Las enzimas pueden mostrar un elevado grado de quimioselectividad, regioselectividad y estereoselectividad.

- **Quimioselectividad:** se produce cuando en sustratos con grupos funcionales de reactividad química similar, hay un grupo que reacciona preferentemente.



- **Regioselectividad:** si una molécula posee varios grupos funcionales iguales, las enzimas pueden distinguir entre ellos, para producir mayoritariamente uno o varios isómeros estructurales sobre todos los que se pueden formar.



- **Estereoselectividad:** las enzimas son catalizadores quirales, propiedad debida a que las proteínas solo contienen L-aminoácidos y esto implica, que las enzimas pueden reconocer una forma óptica especí-

fica del sustrato. La mayoría presentan una elevada selectividad con respecto a la quiralidad del sustrato cuyas reacciones catalizan, siendo una importante propiedad en la aplicación de biotransformaciones. Por ejemplo, los enantiómeros de los compuestos activos de productos farmacéuticos suelen causar distintos efectos biológicos.

La energía de complejación para la formación del complejo ES de un enantiómero puede ser mucho más alta que la del otro. El que se compleje un enantiómero u otro puede deberse a efectos estéricos en el centro activo de la enzima. En el caso de la Figura 3.6, en el centro activo de la enzima el enantiómero *S* (Figura 3.6a) se compleja más fácilmente que el *R* (Figura 3.6b) debido a que en el *S* no existe impedimento estérico entre el metilo de la leucina y el fenilo del sustrato.

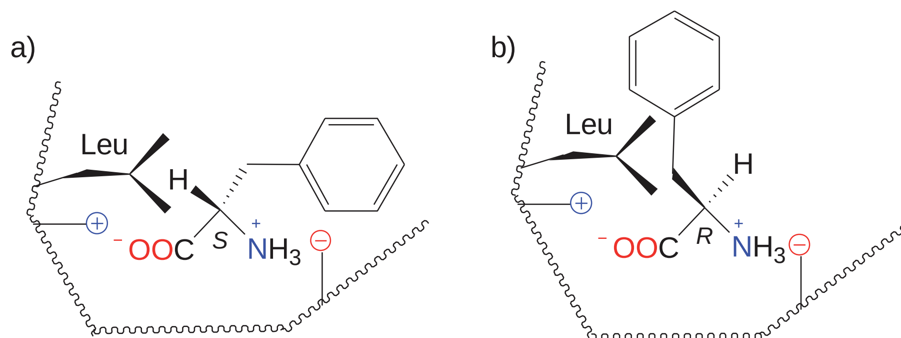


Figura 3.6. Estereoselectividad en enzimas

3.3.3. Tipos de catálisis enzimática

La mayoría de los mecanismos de catálisis enzimática presentan paralelismos con los estudiados en química orgánica. A continuación, se describen los más destacados y, para ilustrarlos, se emplean los modelos orgánicos utilizados para caracterizarlos.

Catálisis ácido-base

La catálisis ácida general consiste en la transferencia de un protón desde un residuo de la enzima, que se comporta como un ácido de Bröns-

ted, al sustrato o a los intermedios de la reacción, disminuyéndose así la energía libre del estado de transición. Por ejemplo, una reacción de tautomería ceto-enólica no catalizada se produce con bastante lentitud como resultado de la elevada energía de su estado de transición similar a un ion enolato (Figura 3.7a). Sin embargo, la donación de un protón al átomo de oxígeno (Figura 3.7b) reduce el carácter de ion enolato del estado de transición, que por eso cataliza la reacción.

Por otro lado, la catálisis básica general consiste en la transferencia de un protón desde el sustrato o de los intermedios de la reacción a un residuo de la enzima, que se comporta como una base de Brönsted, disminuyéndose así la energía libre del estado de transición (Figura 3.7c).

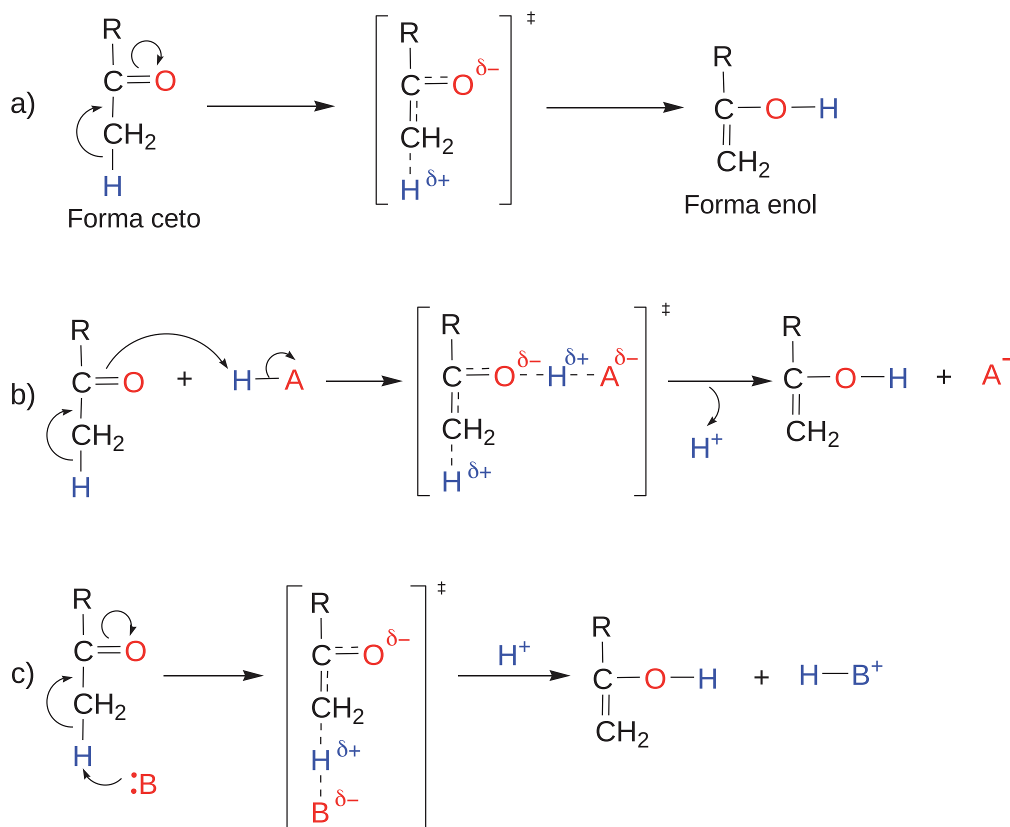


Figura 3.7. Mecanismos de tautomería ceto-enólica. a) no catalizado, b) catálisis ácida general, c) catálisis básica general.

Si se dan ambos tipos de catálisis se tiene una catálisis ácido-base concertada (Figura 3.8).

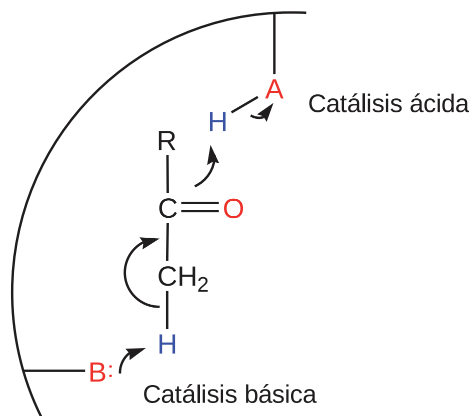


Figura 3.8. Catálisis enzimática ácida y básica simultánea

Catálisis covalente

Una catálisis covalente implica que el catalizador forma transitoriamente un enlace covalente con el sustrato. Un ejemplo, lo constituye la reacción de descarboxilación del acetoacetato catalizado por aminas primaria (Figura 3.9).

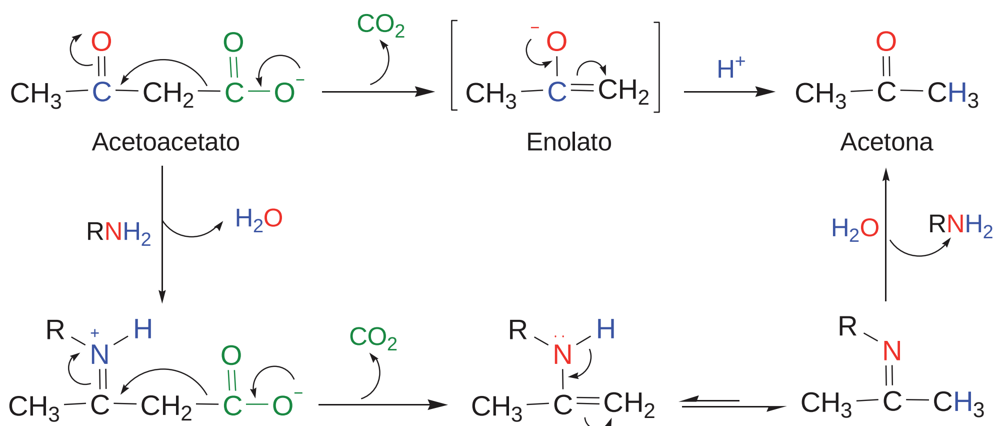


Figura 3.9. Descarboxilación del acetoacetato. En la parte superior se muestra el mecanismo de la reacción sin catalizar y en la parte inferior, el mecanismo de reacción catalizado por las aminas primarias

En la catálisis covalente enzimática, es la enzima la que forma transitoriamente un enlace covalente con el sustrato. El proceso consiste en tres pasos sucesivos (Figura 3.10); 1) ataque nucleófilo de la enzima sobre el sustrato (formación del enlace covalente), 2) toma de electrones por el catalizador u otro sustrato (formación del producto) y 3) separación del producto de la enzima (rotura del enlace covalente, generalmente por hidrólisis).

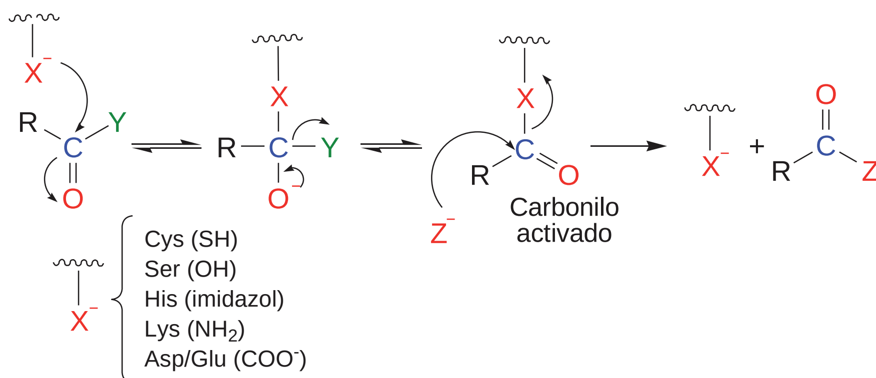


Figura 3.10. Catálisis nucleofílica (X: aminoácidos más comunes)

Catálisis por iones metálicos

Gran parte de las enzimas requiere la presencia de iones metálicos para la actividad catalítica (ver Tema 4). Las funciones de los iones metálicos en la catálisis enzimática son: mediar reacciones de óxido-reducción, hacer de puente entre sustratos o coenzimas y el sitio activo, neutralizar las cargas negativas de los intermedios o estados de transición y promover la catálisis nucleófila mediante la ionización del agua.

La anhidrasa carbónica cataliza la hidratación del dióxido de carbono para obtener bicarbonato:



Esta enzima contiene un ion Zn^{2+} que está implicado en el mecanismo catalítico de la enzima. El ion zinc, está coordinado con el átomo de nitró-

geno de tres grupos imidazol (Im) de los residuos de histidina de la enzima y está localizado en el fondo de una hendidura de 15 Å de profundidad con respecto a la superficie de la proteína. En sus proximidades hay un grupo de residuos que reconocen y enlazan el dióxido de carbono. El agua unida al ion zinc se convierte rápidamente en grupo hidroxilo, situado en la posición precisa para atacar a la molécula de CO_2 enlazada junto a él (Figura 3.11). El ion zinc ayuda a orientar el CO_2 así como a suministrar una concentración local de HO^- muy elevada.

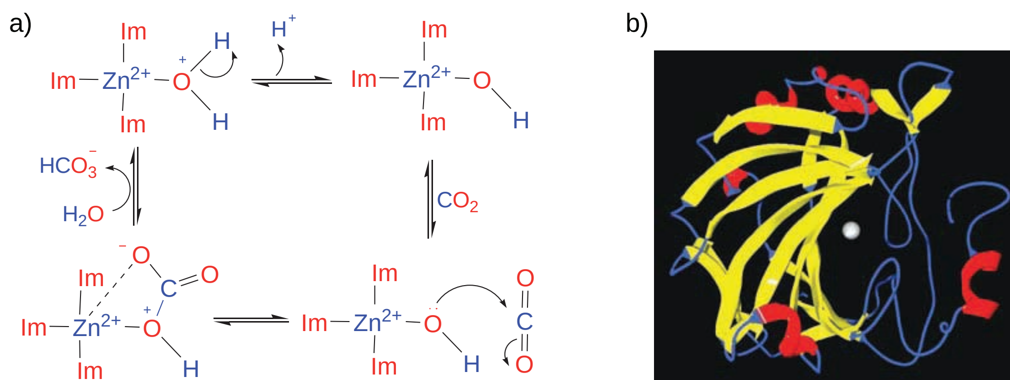


Figura 3.11. a) Mecanismos catalítico de la anhidrasa carbónica.
b) Imagen de la enzima con el ion zinc visible en el centro

Catálisis electrostática

En este tipo de catálisis la enzima estabiliza intermedios o estados de transición de la reacción por neutralización de cargas, gracias a la disposición espacial en el sitio activo de residuos con carga opuesta.

En otros casos, la distribución de cargas en el sitio activo sirve para guiar a los sustratos cargados o polares a sus sitios de unión.

En el ejemplo de la Figura 3.12 se muestra cómo, si durante la reacción (en el sitio activo de la enzima) existe un área funcional positivamente cargada cercana al oxígeno del grupo carbonilo, la polarización agregada a este grupo lo hace más reactivo ayudándolo a adquirir la carga negativa según procede la reacción química.

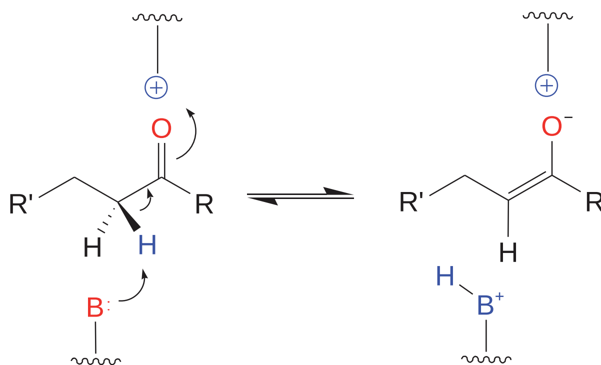


Figura 3.12. Catálisis enzimática electrostática en la enolización

Catálisis multifuncional

Las enzimas multifuncionales son aquellas que presentan diferentes sitios catalíticos (centros activos) en una misma cadena polipeptídica y por ellos pasan los intermedios sin abandonar la superficie de la enzima. Este tipo de enzimas se encuentran con frecuencia en el metabolismo intermedio.

En los animales, los ácidos grasos se sintetizan a partir de un complejo enzimático multifuncional, la sintasa del ácido graso y designada con el acrónimo FAS (del inglés *fatty acid synthase*). Esta enzima es un dímero de subunidades idénticas, cada cadena está plegada formando tres dominios, siendo este el rasgo necesario para que puedan cooperar los centros activos de la enzima (Figura 3.13).



Figura 3.13. Ilustración de la sintasa del ácido graso humana basada en observaciones por microscopio electrónico

En el dominio I, el de entrada del sustrato y la unidad de condensación, contiene la acetiltransferasa, la maloniltransferasa y la β-cetoacilsintasa. El dominio II, la unidad de reducción, contiene la proteína portadora de acilos, la β-cetoacilreductasa, la deshidratasa y la enoilreductasa. El dominio III, la unidad de liberación del palmitato (ácido graso), contiene la tioesterasa. De esta manera, en una sola cadena polipeptídica hay siete centros catalíticos diferentes. Aunque cada cadena contiene todas las enzimas necesarias para la síntesis de los ácidos grasos, los monómeros no son activos ya que se requiere el dímero.

3.4. BIOTRANSFORMACIONES EN SÍNTESIS ORGÁNICA

La quimio-, regio- y estereoselectividad de las enzimas, su versatilidad para llevar a cabo un gran número de reacciones bajo condiciones suaves de pH y temperatura, y la posibilidad de implementar estos procesos en medios de reacción no acuosos, han permitido la incorporación con éxito de estrategias biocatalíticas a procesos de síntesis orgánica.

Pueden catalizar un extenso abanico de reacciones, incluso llevar a cabo reacciones sobre grupos no activados del sustrato que químicamente no serían posibles. Hay que destacar también, que las enzimas no producen contaminación medioambiental. Así, por ejemplo, se ha citado ampliamente la obtención de diversos compuestos enantioméricamente puros para la industria farmacéutica y agroquímica mediante procesos enzimáticos de resolución cinética o de síntesis asimétrica.

Se han generado además, procesos enzimáticos a gran escala para la síntesis de precursores de metabolitos secundarios (ver Tema 6) o de principios activos, en los cuales se involucran reacciones de hidroxilación, de epoxidación, de oxido-reducción, de ciclación y reacciones de adición o sustitución para la formación de enlaces C-C, C-N, C-O.

A pesar de que el agua es el medio natural donde transcurren las biotransformaciones, las enzimas tienen la capacidad de trabajar en mezclas miscibles agua-disolvente orgánico, en sistemas bifásicos agua-disolvente orgánico inmiscible, en sistemas micelares reversos o en medios orgánicos anhidros. Todas las enzimas que se emplean en disolventes orgánicos, tanto hidrófilos como hidrófobos, no están rodeadas por el propio disolvente, sino por agua. Las proteínas presentan alrededor una capa esencial de agua, que es fundamental para su actividad catalítica.

En el caso de utilizar una enzima en forma sólida (liofilizada o adsorbida sobre un soporte inerte) en disolvente orgánico, va a producirse un proceso de catálisis heterogénea en el que aparecen dos fases: una líquida, formada por el disolvente orgánico y los reactivos en él disueltos, y otra sólida, constituida por la enzima con su capa esencial de agua.

La actividad de las enzimas en medios orgánicos depende de la cantidad de agua, la solvatación de los sustratos, el control del pH, el estado físico de la enzima y la naturaleza del disolvente.

El grupo de enzimas o biocatalizadores más utilizado en síntesis orgánica y en procesos industriales son las **hidrolasas**, éstas catalizan la hidrólisis selectiva de enlaces del tipo C-O, C-N e incluso P-O. Son enzimas fácilmente accesibles y presentan una gran versatilidad catalítica, puesto que pueden adoptar diversas conformaciones que les permite acomodar en su centro activo una amplia variedad de sustratos.

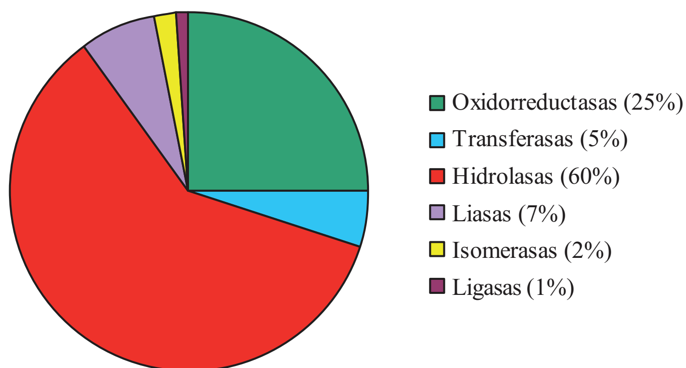


Figura 3.14. Uso de las enzimas como catalizadores químicos

Las hidrolasas más utilizadas a nivel industrial en la obtención de fármacos son las lipasas y las proteasas.

Las **lipasas** catalizan en el organismo la hidrólisis de ésteres formados a partir de glicerol y ácidos grasos de cadena larga, de forma regio- y enantioselectiva. Son en muchos casos, el biocatalizador empleado en la preparación de moléculas orgánicas quirales por: su estabilidad en medios orgánicos, no requerir cofactores, su elevada regio-, quimio- y enantioselectividad y el amplio espectro de sustratos que pueden transformar.

Las lipasas también son las enzimas más empleadas en procesos de resolución racémica de alcoholes (preferentemente secundarios), ácidos, ésteres y aminas. Su versatilidad las hace que sean capaces de llevar a cabo la hidrólisis de otros sustratos no naturales, así como la síntesis en medio orgánico de ésteres y otros compuestos.

La lipasa de *Candida rugosa* es una de la más utilizada en biotransformaciones, dando lugar a numerosas aplicaciones industriales donde se usa esta enzima para la obtención de productos farmacéuticos como, por ejemplo, el ibuprofeno que es un antiinflamatorio no esteroídico. Estudios farmacológicos de la actividad terapéutica de los dos enantiómeros del ibuprofeno han demostrado que el isómero *S*(+), tiene un poder antiinflamatorio 160 veces mayor que su antípoda *R*(-). La compañía norteamericana Pfizer ha desarrollado un proceso industrial para la obtención del enantiómero *S*(+)-ibuprofeno partiendo de una mezcla racémica del correspondiente éster metoxietílico (Figura 3.15), proceso catalizado por la lipasa de *Candida rugosa* inmovilizada en los poros de un reactor de membrana, a temperatura de 20 ºC y pH 5.

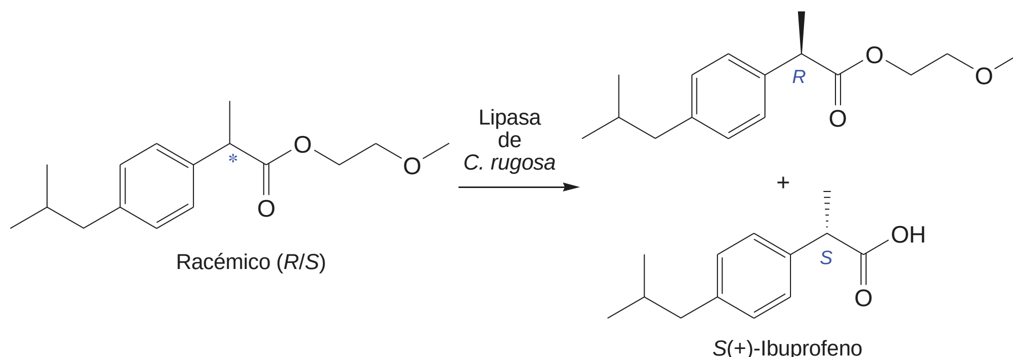


Figura 3.15. Síntesis de *S*(+)-ibuprofeno por hidrólisis del éster racémico

Por otro lado, las **proteasas** catalizan la hidrólisis de enlaces peptídicos. Se aplican con éxito en la síntesis química debido a su alta estereoselectividad, incluso sobre sustratos no naturales, y a su capacidad para catalizar la reacción inversa a la hidrólisis en medios no acuosos. Entre sus aplicaciones destacan: síntesis de péptidos, catálisis de reacciones de esterificación/transesterificación y resolución de mezclas racémicas.

La proteasa alcalina de *Bacillus licheniformis* se utiliza en las resoluciones cinéticas de compuestos de interés industrial como, por ejemplo, el empleo de esta proteasa por la compañía suiza Hoffmann La-Roche en la obtención de un sintón quiral útil en la síntesis de inhibidores de la renina. El proceso está basado en la hidrólisis enantioselectiva del éster etílico del ácido (*R*,*S*)-2-bencil-3-[[1-metil-1-((morfolin-4-il)carbonil)etil]sulfonil] propiónico para la obtención del sintón quiral ácido (2*R*)-2-bencil-3-[[1-metil-1-((morfolin-4-il)carbonil)etil]sulfonil] propiónico (Figura 3.16).

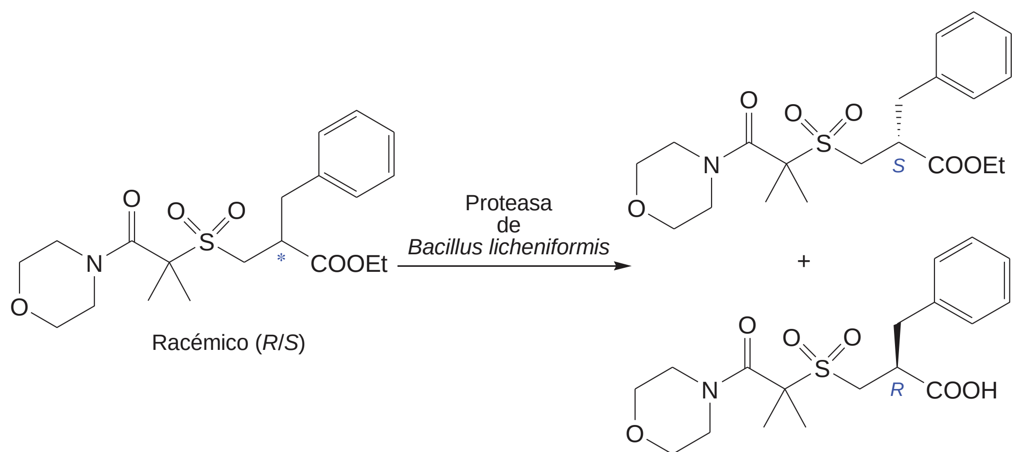


Figura 3.16. Síntesis del sintón quiral *R* por hidrólisis del éster racémico

Las enzimas que ocupan el segundo orden de importancia en el área de las biotransformaciones son las **oxidorreductasas**. Dentro de estos biocatalizadores se encuentran las *deshidrogenasas*, capaces de catalizar la oxidación o reducción de un sustrato por sustracción o adición de dos átomos de hidrógeno, empleando un par de coenzimas que actúan como aceptores o como dadores de electrones y protones (ver Tema 4).

A diferencia del uso de deshidrogenasas aisladas, cuyos cofactores deben agregarse y posteriormente reciclarse, debido a su elevado coste económico, el empleo de células enteras supone la ventaja de que estas contienen todos los cofactores necesarios y las vías metabólicas adecuadas para su regeneración. De esta manera se evita el tener que reciclar los cofactores.

Uno de los microorganismos más utilizados en la reducción de aldehídos y cetonas son las levaduras panaderas (*Saccharomyces cerevisiae*) ya que su uso

no necesita equipamiento especial de laboratorio, poseen una alta estereoselectividad, son económicas y fácilmente disponibles. Las cetonas aromáticas y alifáticas son reducidas por estas levaduras para obtener los correspondientes (*S*)-alcoholes con un elevado grado de pureza óptica (Figura 3.17).

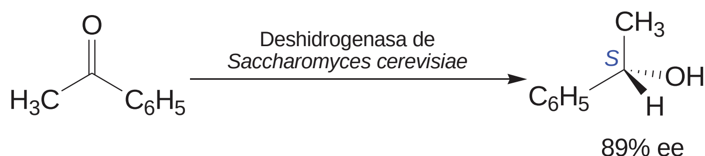


Figura 3.17. Reducción de acetofenona a (*S*)-1-feniletanol, utilizando una levadura panadera

3.5. ENZIMAS ARTIFICIALES

Las enzimas artificiales son moléculas diseñadas para imitar la capacidad que tienen las enzimas naturales de actuar sobre sustancias muy específicas. Funcionan del mismo modo que las naturales, sin embargo, mientras que estas son moléculas de elevado peso molecular (10^4-10^6 Da) y complejas, las artificiales son más pequeñas, estructuralmente más sencillas y contienen los grupos funcionales que constituyen los centros activos responsables de su actividad.

Una consecuencia de esta simplicidad es que el diseño de enzimas artificiales para tareas específicas se vuelve más fácil. Con menor cantidad de componentes, son también menos las probabilidades de que algo falle al cambiar la estructura de las enzimas. No obstante, pese a la reducción en el nivel de dificultad, la tarea de diseñar enzimas artificiales que hagan bien el trabajo al que se las pretende destinar, entraña aún bastantes complicaciones.

Se puede intentar reproducir el centro activo de una enzima con compuestos de naturaleza no proteica como pueden ser ciclodextrinas, dendrímeros, polímeros y ciclofanos, entre otros (ver Tema 2). Normalmente, estas estructuras químicas contienen compuestos derivados de los cofactores enzimáticos como los citocromos, el fosfato de piridoxal o el fosfato de piridoxamina o bien un metal catalítico que actúa como ácido de Lewis (por ejemplo, Zn) o un metal que actúa como centro redox (por ejemplo, Cu, Co, Mn, Fe). Algunos de estos sistemas muestran una actividad catalítica elevada aunque todavía no se ha alcanzado la estereoselectividad deseada.

Un ejemplo de aplicación de ciclofanos a un modelo de enzima artificial, corresponde a la piruvato oxidasa diseñada por François Diederich. La enzima natural, piruvato oxidasa, utiliza dos coenzimas (pirofosfato de tiamina y FAD) para catalizar la transformación de piruvato a acetil fosfato (ver Temas 4 y 5). La enzima artificial de Diederich, combina un centro de enlace que contiene la flavina y el tiazol unidos covalentemente a su estructura. La proximidad de ambos grupos al centro de enlace supone una mejora del sistema frente a los que contienen los dos componentes por separado. En la Figura 3.18 se muestra un ejemplo de utilización de esta enzima artificial.

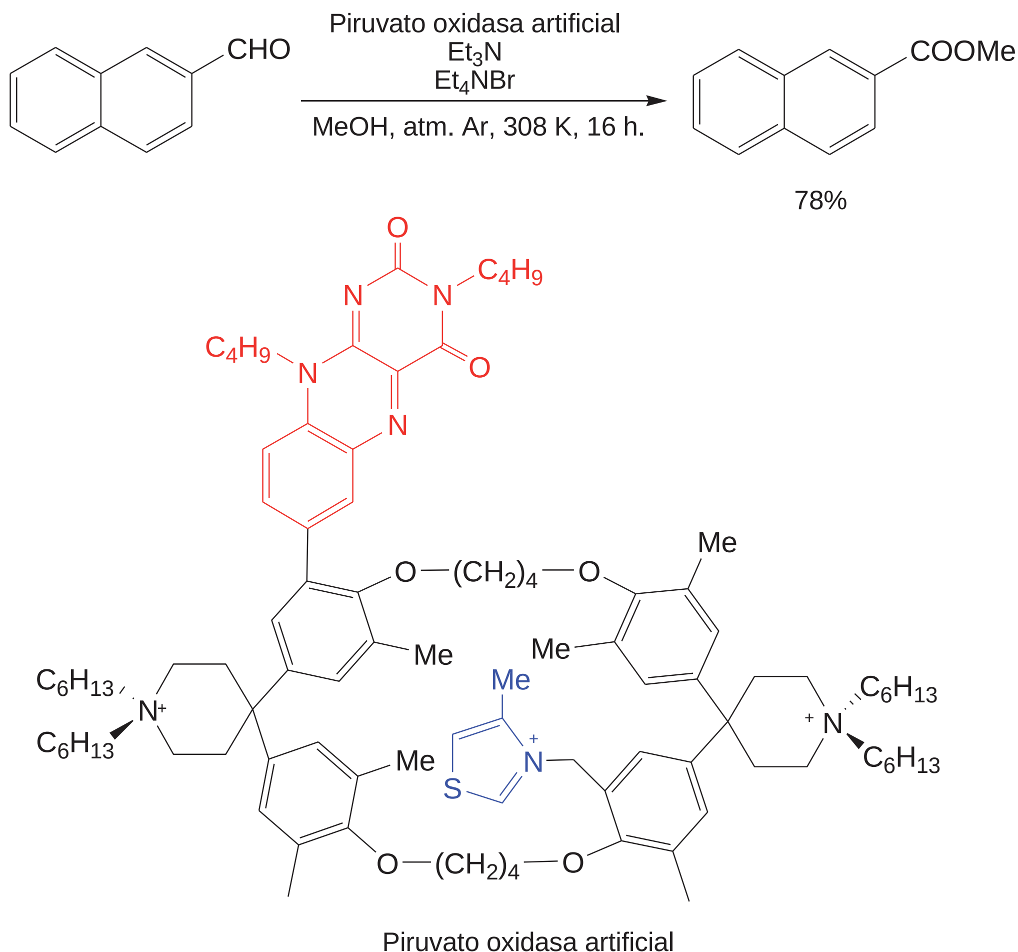


Figura 3.18. Reacción de transformación de 2-naftaldehído a 2-naftoato de metilo, catalizada por la enzima artificial de Diederich

Para esta reacción, se ha observado la cinética de Michaelis-Menten con una constante de formación del complejo catalizador-sustrato $K = 43\ M^{-1}$, y una constante de velocidad catalítica de transformación del sustrato complejado $k = 0{,}24\ s^{-1}$, que son del orden de magnitud observado para enzimas naturales.

El ciclofano funcionalizado por los grupos tiazol y flavina de la piruvato oxidasa artificial, es el que reconoce al sustrato mediante una fuerte interacción no covalente, al igual que la enzima natural.

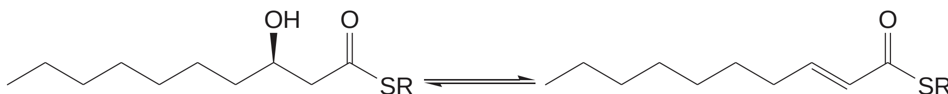
CONCEPTOS CLAVE

1. Las enzimas son catalizadores eficaces y muy específicos.
2. Los diferentes tipos de enzimas se clasifican dependiendo del tipo de reacción que catalicen: oxidorreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas.
3. Las enzimas estabilizan el estado de transición reduciendo la energía necesaria para formar los productos.
4. La unión entre el sustrato y el centro activo de la enzima, se realiza a través de interacciones no-covalentes.
5. Los factores que influyen en la actividad catalítica de la enzima son: el pH, la temperatura, la concentración del sustrato y los inhibidores.
6. Las enzimas presentan un elevado grado de quimio-, regio- y estereoselectividad.
7. En los sistemas biológicos, las enzimas son capaces de diferenciar los dos enantiómeros de un compuesto racémico a través de las diferentes uniones establecidas, lo que supone una diferencia en la actividad de cada enantiómero. Esta propiedad ha generado que sean empleadas en la industria farmacéutica.
8. Los mecanismos de catálisis enzimática que se estudian en este tema son: ácido-base, covalente, por iones metálicos y electrostática.
9. Algunas enzimas presentan en su centro activo diferentes sitios catalíticos, denominándose a esta catálisis, multifuncional.
10. Las reacciones que utilizan enzimas en síntesis orgánica se denominan biotransformaciones o procesos biocatalíticos y pueden ser realizadas en disolventes no acuosos.
11. Las enzimas artificiales son moléculas más pequeñas que las naturales, que contienen el centro activo de estas últimas, imitando su comportamiento.

EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

1. Indicar que enzimas intervienen en las siguientes reacciones:

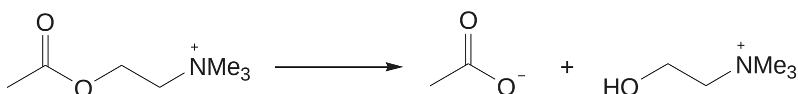
a)



b)



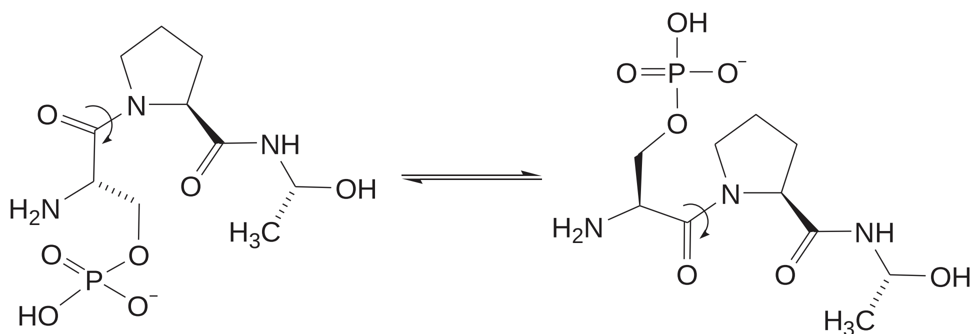
c)



d)

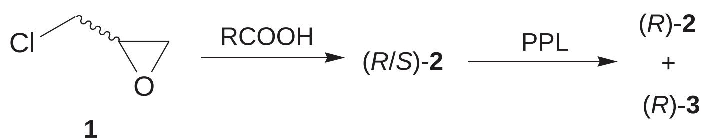


e)



2. El 3-cloropropanooxirano racémico (**1**) puede convertirse en un (*S*)-betabloqueante por acción de la lipasa pancreática porcina (del inglés

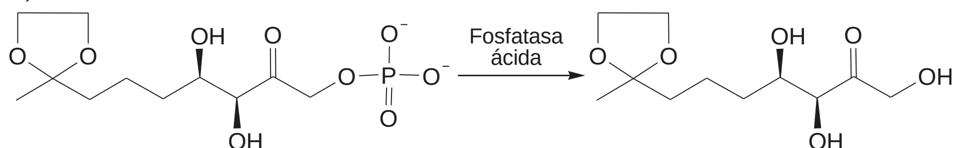
Porcine Pancreas Lipase, PPL). Indicar la estructura del producto final y de todos los intermedios de reacción.



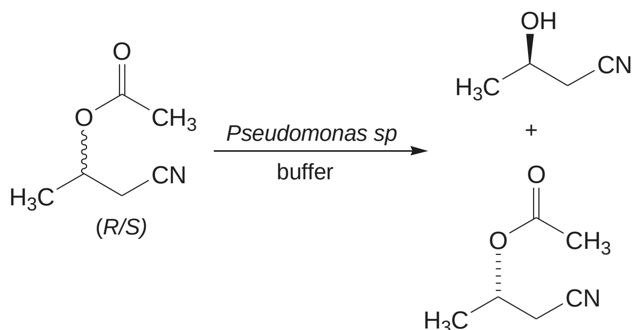


3. Indicar que tipo de especificidad o selectividad tiene lugar en cada una de las siguientes reacciones:

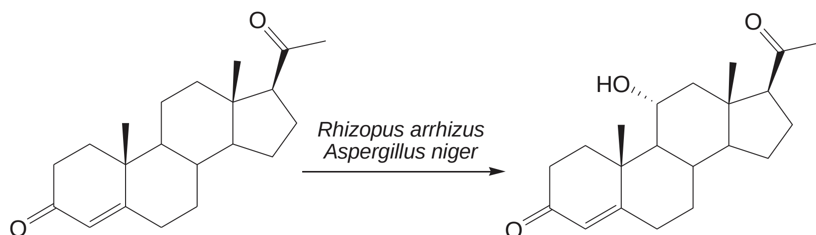
a)



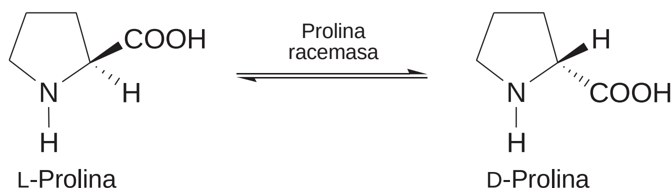
b)



c)

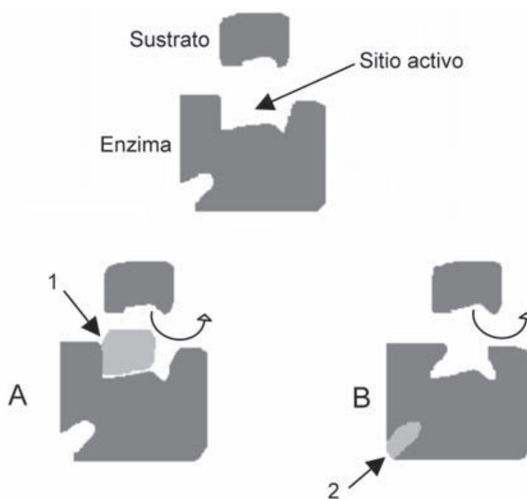


4. La prolina racemasa cataliza la siguiente reacción:



El 2-carboxipirrol es un poderoso inhibidor de esta enzima para en esta reacción. Explicar el porqué.

5. Señalar el significado de las figuras A y B.



SOLUCIONES A LOS EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

1. **a)** Deshidratasa

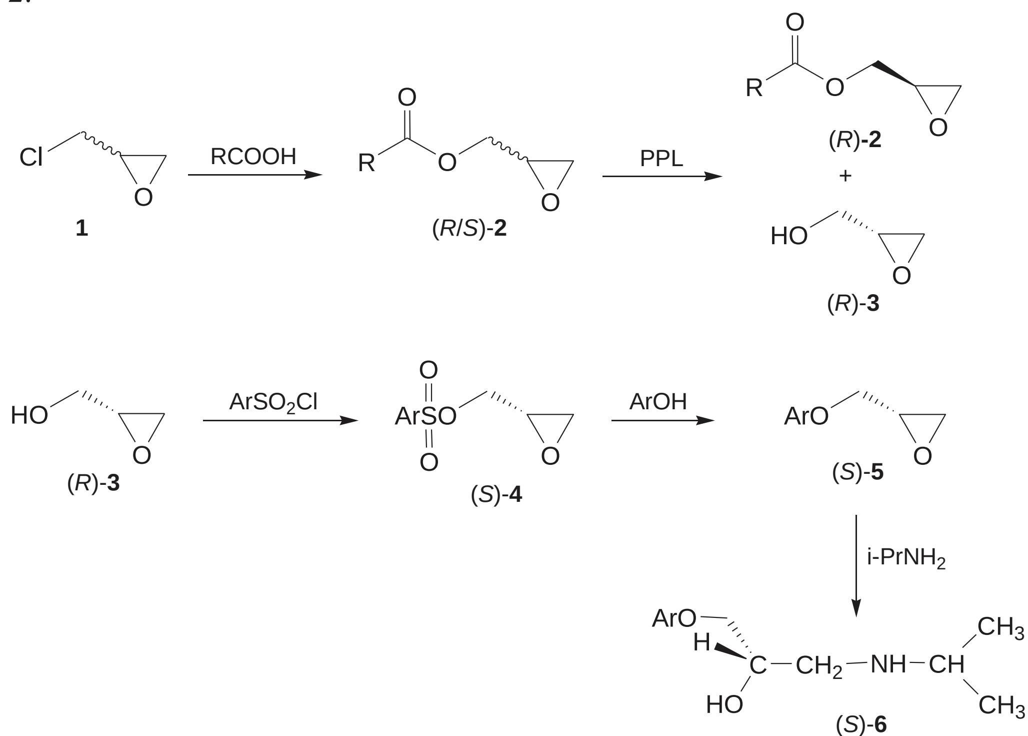
   b) Carboxilasa

   c) Esterasa

   d) Enoil reductasa

   e) *cis-trans* Isomerasa

2.

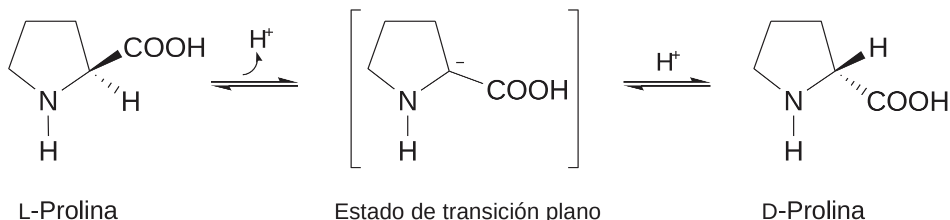


3. **a)** Quimioselectividad. Hidrólisis enzimática de enlace O-P, permaneciendo inalterado el grupo acetal.

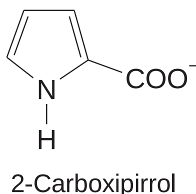
   b) Estereoselectividad. Se produce una reacción de hidrólisis estereoselectiva, obteniéndose el enantiómero *R*.

   c) Regioselectividad. Hidroxilación regioselectiva de estereoides.

4. La reacción catalizada por la prolina racemasa, en la que la L-prolina y la D-prolina, pueden actuar como sustrato o producto, se produce mediante un estado de transición plano.



El 2-carboxipirrol presenta una configuración plana en el carbono a debido a los dobles enlaces del anillo de pirrol. Por ello esta molécula es un análogo del estado de transición plano de la D- y L-prolina y será, por lo tanto, capaz de inhibir la racemización uniéndose al centro activo de la prolina racemasa.



2-Carboxipirrol

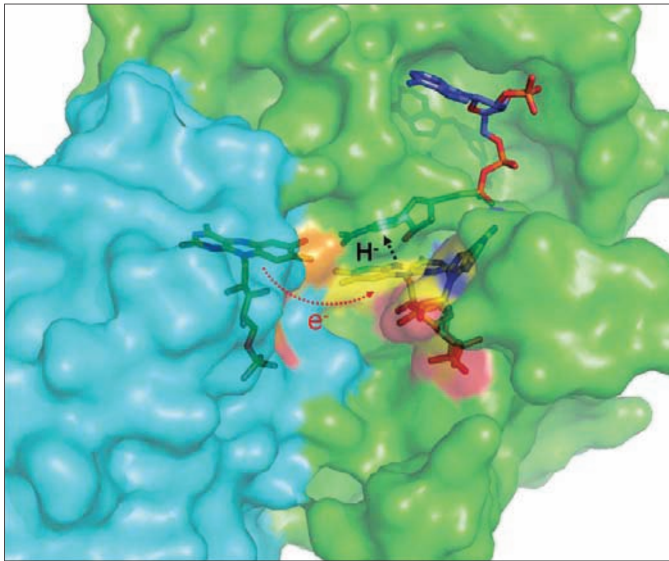
5. En la figura A tenemos una inhibición competitiva. El inhibidor competitivo (1) es una molécula tan parecida al sustrato que compite por alojarse en el centro activo de la enzima, impidiendo así la fijación del sustrato y su posterior transformación.

   En la figura B tenemos una inhibición no competitiva. El inhibidor no competitivo (2) se une a la enzima en otra región distinta al centro activo y provoca un cambio conformacional que dificulta la interacción con el sustrato, por lo que disminuye la actividad de la enzima.

TEMA 4

COFACTORES. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

María de los Ángeles Farrán Morales



Centro activo de la *Flavoenzima ferredoxina-NADP⁺ reductasa*

SUMARIO

OBJETIVOS

General

Conocer la estructura y la reactividad de los cofactores más representativos de las enzimas.

Específicos

1. Conocer y clasificar, según su naturaleza vitamínica o no vitamínica, las coenzimas más representativas.
2. Identificar la parte químicamente activa en las estructuras de las coenzimas.
3. Asociar la estructura química de cada coenzima con su reactividad específica.
4. En base a su estructura, reconocer las coenzimas que transfieren grupos funcionales o moléculas y las que transfieren electrones y protones.
5. Conocer las funciones más importantes de los cofactores metálicos.

4.1. INTRODUCCIÓN

Las enzimas, cuyas propiedades catalíticas se han visto en el Tema 3, son esencialmente proteínas que poseen un centro activo en el que tiene lugar la reacción catalítica. Este centro activo está normalmente compuesto de una serie de aminoácidos de las cadenas de la proteína, pero en ocasiones se necesita una molécula orgánica, un ión metálico o ambos, que se denominan *cofactores*, para que el proceso catalítico ocurra. Los cofactores que son moléculas orgánicas, unidas de forma covalente o no covalente a la enzima, se denominan *coenzimas*.

Muchas coenzimas derivan de las vitaminas, y otras derivan de nucleótidos como la adenosina. De hecho, el descubrimiento de muchos de estos compuestos tuvo lugar en los siglos XVII y XIX, al ver que su deficiencia provocaba enfermedades, tales como el escorbuto (deficiencia de vitamina C o ácido ascórbico) o el beriberi (deficiencia de vitamina B_1 o tiamina). Como se verá a continuación, la mayoría de las coenzimas tienen estructuras complejas y no pueden ser sintetizadas por algunos organismos por lo cual deben ser incorporadas a su dieta, de ahí las enfermedades que provocan su deficiencia. Su importancia es vital en el metabolismo, ya que están implicadas directamente en reacciones del mismo.

4.2. TIPOS DE COENZIMAS

La Tabla 4.1 contiene las coenzimas más importantes, clasificadas según su naturaleza, vitamínica y no vitamínica. En los siguientes apartados de este Tema, se expondrá de manera sencilla su estructura y la función química que desempeñan. A efectos de organizar el estudio, las coenzimas se clasificarán en dos tipos, las que transfieren grupos funcionales o moléculas y las que transfieren electrones y protones, denominadas coenzimas redox.

Tabla 4.1. Coenzimas más importantes y su función química

Coenzimas de naturaleza vitamínica		
Coenzima	Vitamina	Función
Coenzima A (CoA)	Ácido pantoténico, B_5	Transferencia de grupos acilo
Pirofosfato de tiamina (TPP)	Tiamina, B_1	Descarboxilaciones; Transferencia de aldehídos o cetonas
Biotina	Biotina, H	Transferencia de CO_2 (carboxilaciones y descarboxilaciones)
Fosfato de piridoxal (PLP)	Piridoxina, B_6	Transferencia de grupos amino y carboxilo
Tetrahidrofolato (FH_4)	Ácido fólico, B_9	Transferencia de hidruro y de grupos monocarbonados
Cobalaminas	Cianocobalamina, B_{12}	Transferencia de grupos metilo, adenosilo...
Dinucleótidos de nicotinamida y adenina (NAD^+, $NADP^+$)	Ácido nicotínico, B_3	Transporte de iones hidruro
Mononucléotido de flavina (FMN) Dinucleótido de flavina y adenina (FAD)	Riboflavina, B_2	Tansferencia de 2 protones y 2 electrones
Ácido ascórbico	Ácido L-ascórbico, C	Tansferencia de electrones, antioxidante
Coenzimas de naturaleza no vitamínica		
Coenzima	Función	
Trifosfato de adenosina (ATP)	Transferencia de grupos fosfato	
S-Adenosilmetionina (SAM)	Transferencia de grupos metilo	
Tetrahidrobiopterina (BH_4)	Transferencia de electrones. Hidroxilaciones	
Ácido lipoico	Descarboxilaciones oxidativas	

4.3. COENZIMAS QUE TRANSFIEREN GRUPOS FUNCIONALES

4.3.1. Coenzima A (CoA)

Una coenzima de gran importancia en las rutas metabólicas es sin duda alguna la coenzima A y su forma acetilada, la acetilcoenzima A (acetil-CoA) (Figura 4.1), que fueron descubiertas por el bioquímico ale-

mán Fritz Lipmann en 1945 y que junto con Hans Krebs por sus estudios del ciclo del ácido cítrico o de Krebs, recibirían en 1953, el premio Nobel de Medicina.

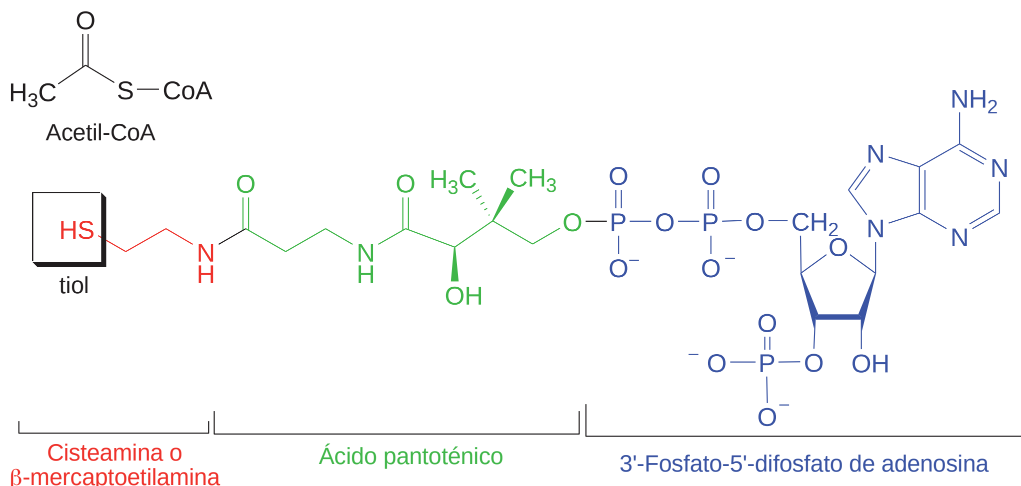


Figura 4.1. Estructura de la coenzima A y de la acetil-CoA

La principal función de la coenzima A es la transferencia de grupos acilo (Tabla 4.1) y su papel más importante, desde el punto de vista químico, lo juega activando un grupo ácido para convertirlo en un buen grupo saliente. El carbono carbonílico de un derivado de ácido es menos electrófilo que el de un aldehído o una cetona, debido a que la carga positiva se estabiliza por resonancia con el heteroátomo adyacente (Figura 4.2).

Como se observa en la Figura 4.2, el orden de reactividad, de menor a mayor, frente a la sustitución nucleófila de los derivados de ácido empieza en el carboxilato que es el menos reactivo, sigue con las amidas, los ácidos y ésteres y termina con los tioésteres y fosfoésteres que son los más reactivos. Se puede racionalizar también pensando en la basicidad del grupo saliente (X^-), de modo que cuanto más débil sea como base el grupo X^-, mejor grupo saliente será. Por ello, los tiolatos y los fosfatos, al ser menos básicos, son mejores grupos salientes. Consecuentemente, la hidrólisis básica de un tioéster requiere unas condiciones de reacción más suaves que las de un éster y siendo, además, más rápida.

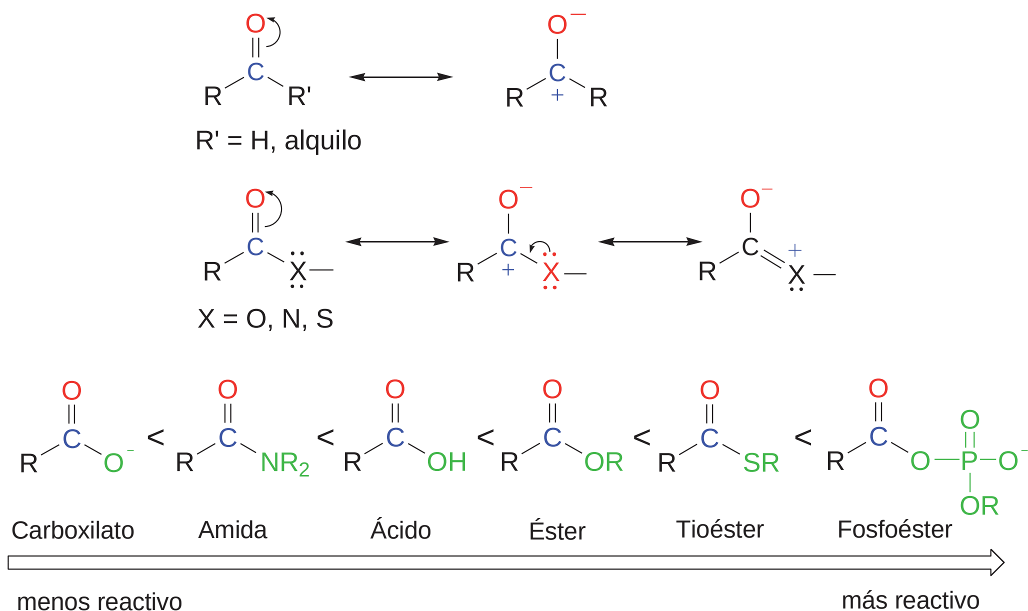


Figura 4.2. Orden de reactividad de los derivados de ácido

La activación y transferencia de grupos acilo son reacciones que ocurren en la biosíntesis de ácidos grasos, de policetonas de productos naturales y en la formación de grupos éster y amida en biomoléculas. Por ello, la acetil-CoA es el cofactor que se encuentra en muchas enzimas para transferir grupos acilo a aminas, alcoholes, tioles y otros nucleófilos. Por ejemplo, en la primera reacción del ciclo de Krebs o ciclo del ácido citríco (Figura 4.3), la presencia de un grupo tioéster (R-COSCoA), formado por la coenzima A y el grupo acilo, precursor del citrato, facilita el ataque de una molécula de agua (nucleófilo) para formar citrato y coenzima A.

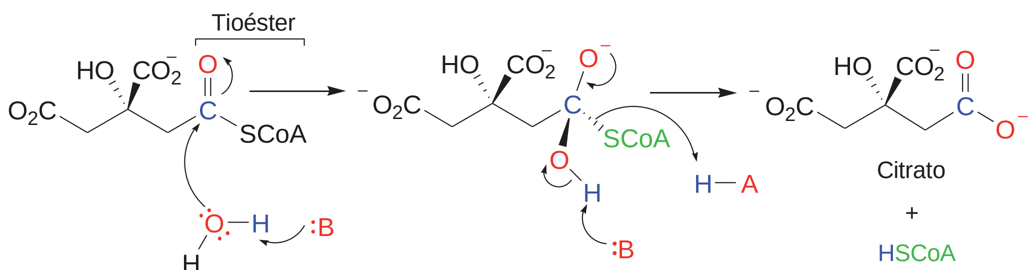


Figura 4.3. Formación de citrato en el ciclo de Krebs

4.3.2. Trisfosfato de adenosina (ATP)

La coenzima ATP (Figura 4.4) es probablemente la más importante de todas las coenzimas, puesto que es la que proporciona energía para activar las reacciones del metabolismo celular. En la estructura del ATP se pueden observar enlaces de anhídrido fosfórico (**P-O-P**) (el trifosfato proviene de la condensación de tres moléculas de ácido fosfórico), que poseen una energía de enlace muy alta (7,7 Kcal/mol) y, por lo tanto, son muy lábiles, con lo cual se hidrolizan fácilmente, liberando energía que se utiliza en los procesos metabólicos.

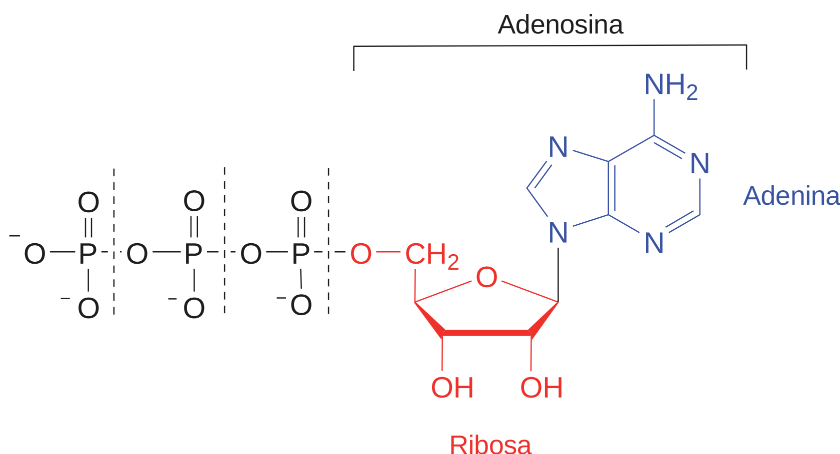


Figura 4.4. Estructura del ATP indicando donde tiene lugar la hidrólisis de los grupos fosfato

La reacción de transferencia de grupos fosfato es una sustitución nucleófila, donde el electrófilo es el grupo fosfato que es atacado por un nucleófilo como, por ejemplo, un alcóxido (RO^-). En muchas ocasiones, los oxígenos de los grupos fosfato que están cargados negativamente se coordinan con cationes Mg^{2+} aumentando así el carácter electrófilo del átomo de fósforo por efecto del carácter de ácido de Lewis de los cationes de Mg^{2+}. Existen muchos tipos de reacciones, por ejemplo, la fosforilación de alcoholes, de monosacáridos, de ácidos carboxílicos, de amidas y, en ocasiones, se pueden transferir también dos grupos fosfato, dando lugar a un derivado difosfatado y AMP (monofosfato de adenosina). En la Figura 4.5 se muestra la transferencia del grupo fosfato de una molécula de ATP a un alcohol.

Del mismo modo, el ATP se puede regenerar desde el ADP e incluso el AMP, mediante la acción de la enzima *ATP sintetasa*.

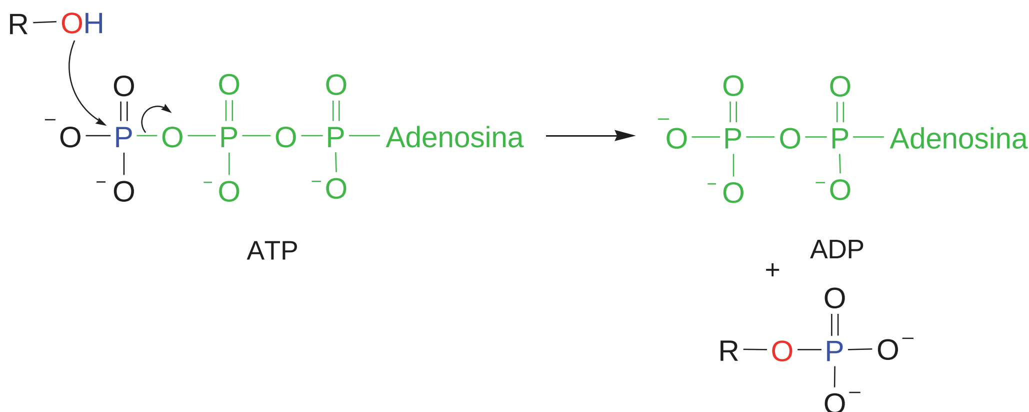


Figura 4.5. Transferencia del grupo fosfato de una molécula de ATP a un alcohol

4.3.3. Pirofosfato de tiamina (TPP)

La vitamina B_1 o tiamina (Figura 4.6) es la forma inactiva de la coenzima pirofosfato de tiamina o difosfato de tiamina (TPP). Su estructura se compone de dos anillos heterocíclicos, un anillo de pirimidina y uno de tiazolio siendo, este último, el responsable de su actividad catalítica debido a dos propiedades químicas:

1. La acidez del protón del catión tiazolio. Este protón es muy ácido debido al átomo de azufre que es capaz de aceptar densidad electrónica en la estructura de la base conjugada (carbanión ilideno), así como el átomo de nitrógeno con carga positiva que también ayuda a la estabilización del carbanión o base conjugada.

2. La presencia de un doble enlace -C=N$^+$- que actúa como grupo aceptor de electrones.

El TPP actúa como coenzima en enzimas que intervienen en la descarboxilación de α-cetoácidos. Así, la descarboxilación del ácido pirúvico (*piruvato descarboxilasa*) en acetaldehído o la del *p*-hidroxifenilpiruvato en *p*-hidroxifenilacetaldehído, constituyen algunos ejemplos. El mecanismo de dicha descarboxilación se describirá en el tema 5 (apartado 5.2.4).

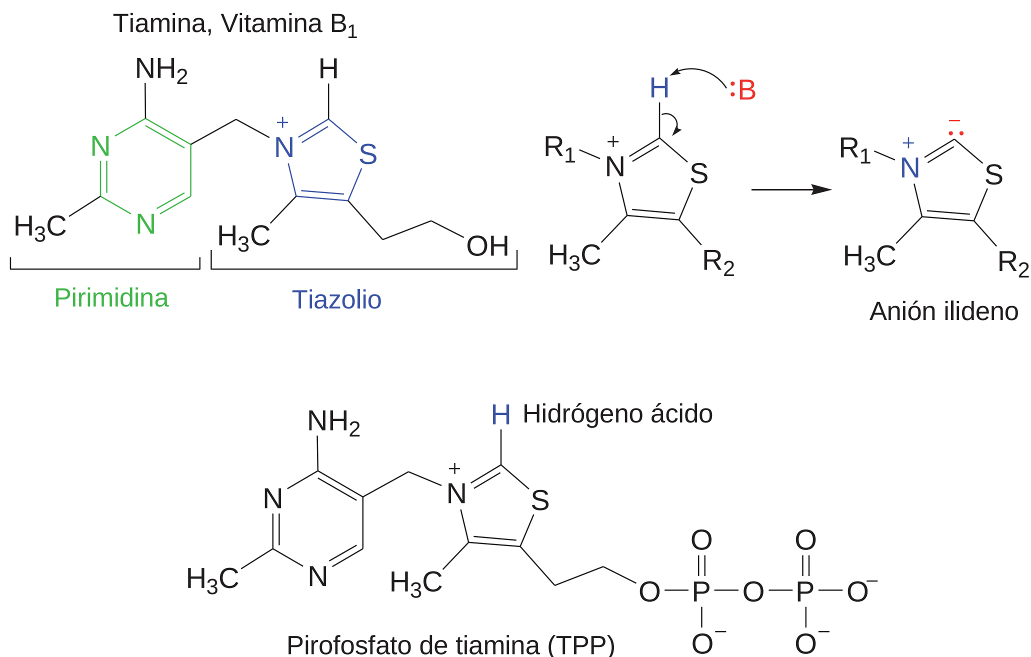


Figura 4.6. Estructuras de la tiamina y del pirofosfato de tiamina (TPP)

Otra reacción enzimática donde está implicada la coenzima TPP es la degradación de la D-glucosa, concretamente en la conversión del piruvato en acetil-CoA, proceso catalizado por el complejo enzimático *piruvato deshidrogenasa*. En el Tema 5 se hará referencia a dicho proceso.

4.3.4. Biotina

La biotina (Figura 4.7) es una coenzima cuya estructura química está compuesta de dos anillos heterocíclicos fusionados, un anillo tipo ureido derivado del imidazol y un anillo de tiofeno tetrahidrogenado, el cual está unido al ácido valérico, ácido orgánico de cinco átomos de carbono (ácido pentanoico). Su función principal es la transferencia de una molécula de CO_2 y, por ello, se encuentra en la mayoría de las carboxilasas y descarboxilasas. La biotina se encuentra anclada a la parte proteica de la enzima mediante un enlace amida formado por el grupo carboxilo de la biotina y el grupo amino de una lisina del centro activo; en este caso se denomina biocitina.

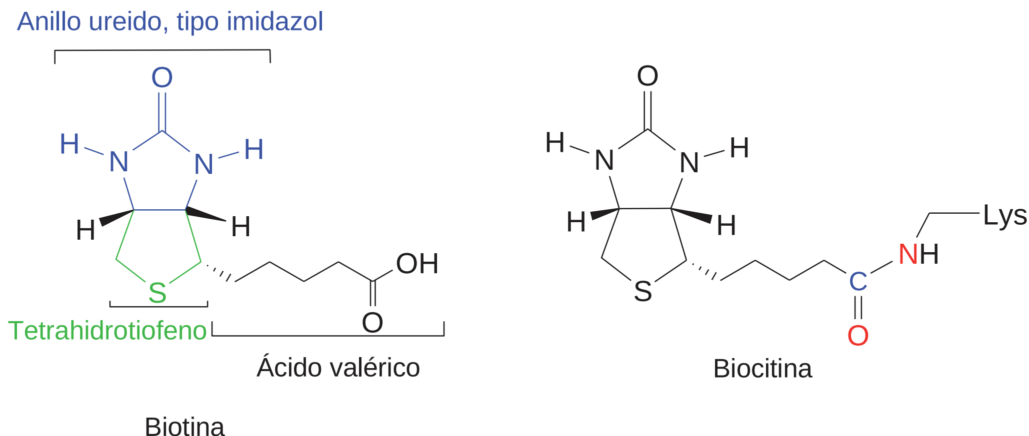


Figura 4.7. Estructuras de la biotina y la biocitina

La biotina es la coenzima de la *acetil-CoA carboxilasa* en la biosíntesis de ácidos grasos, concretamente en la tercera etapa del proceso en la que se forma malonil-CoA a partir de acetil-CoA (el mecanismo de esta carboxilación se mostrará en el Tema 5, apartado 5.2.4). Otro ejemplo de carboxilación es la reacción con la enzima *piruvato carboxilasa*.

La biotina actúa también como cofactor en enzimas que catalizan reacciones de descarboxilación como por ejemplo, la *glutaconil-CoA descarboxilasa*, la *metilmalonil-CoA descarboxilasa* y la *oxoacetato-CoA descarboxilasa*.

4.3.5. Fosfato de piridoxal (PLP)

El fosfato de piridoxal (PLP) es la coenzima implicada primordialmente en las reacciones enzimáticas de los α-aminoácidos. Entre las reacciones más importantes en las que están implicados los aminóacidos destacan las de formación de amidas para la biosíntesis de proteínas, y en la biosíntesis de alcaloides (se estudiarán en el Tema 10).

El fosfato de piridoxal (PLP) es un derivado de la vitamina B_6 o piridoxina (Figura 4.8). Como se observa en la Figura 4.8a, la piridoxina es una piridina sustituida en las posiciones 3 y 4 por grupos hidroximetilo ($-CH_2OH$), un hidroxilo en posición 5 y un metilo en posición 6. En el piridoxal, en cambio, un grupo formilo (aldehído) ocupa la posición 4.

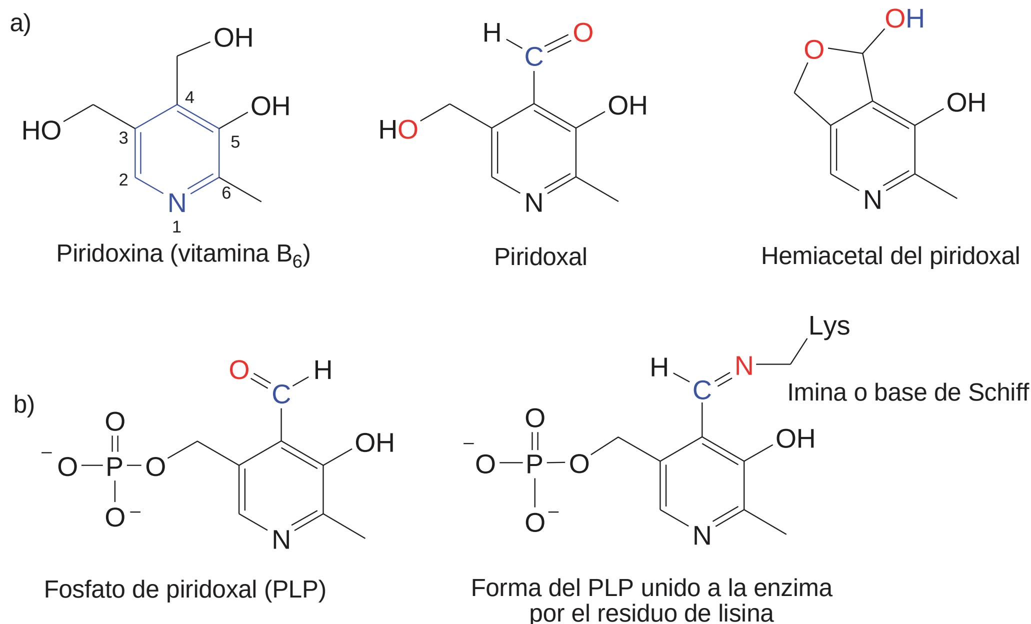


Figura 4.8. Estructuras de: a) la piridoxina, el piridoxal y su hemiacetal; b) el fosfato de piridoxal (PLP) y el PLP unido a un residuo de lisina formando una imina

El PLP se forma por reacción del piridoxal con una molécula de ácido fosfórico (H_3PO_4). Este paso de reacción es muy importante, ya que si el grupo hidroxilo no estuviera fosforilado, se formaría un hemiacetal (Figura 4.8), impidiendo la formación posterior de una base de Schiff con una amina. El PLP se encuentra unido a la parte proteica de la enzima formando una imina con la cadena lateral de aminoácido lisina, que contiene un grupo amino en su cadena alifática. El anillo de piridina es deficiente en electrones y actúa como sumidero de electrones.

Las reacciones en las que interviene la coenzima PLP son diversas: descarboxilación, transaminación, racemización, β-eliminación y retroaldólicas. Los mecanismos detallados de descarboxilación y transaminación se verán en el Tema 5 (apartados 5.2.4 y 5.3.2, respectivamente).

4.3.6. *S*-Adenosilmetionina (SAM)

La coenzima *S*-adenosilmetionina (SAM) es la encargada de transferir grupos metilo a átomos de carbono, nitrógeno u oxígeno en compuestos im-

plicados en el metabolismo celular. En la Figura 4.9 se muestra su estructura, que contiene un anillo de adenina y uno de ribosa unido a un residuo de metionina, que es un aminoácido que contiene un grupo tioéter (SCH_3).

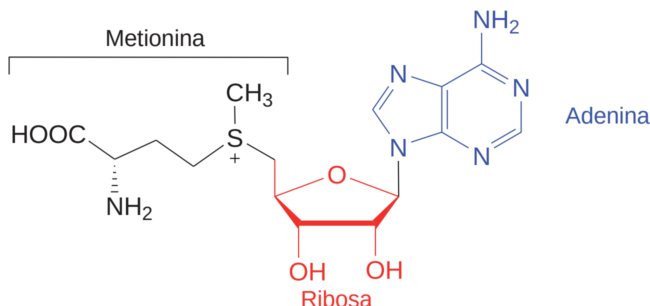


Figura 4.9. Estructura de la coenzima SAM

En la SAM, el grupo metilo se encuentra unido a un átomo de azufre cargado positivamente, lo cual lo convierte en un grupo saliente muy bueno para reacciones de sustitución nucleófila. Como se verá en el Tema 5, las reacciones catalizadas por la SAM son reacciones que transcurren mediante un mecanismo S_N2. En la Figura 4.10 se muestra como ejemplo la metilación con SAM de la base nitrogenada adenina. Como se observa, la *N*-metilación tiene lugar en el nitrógeno extracíclico.

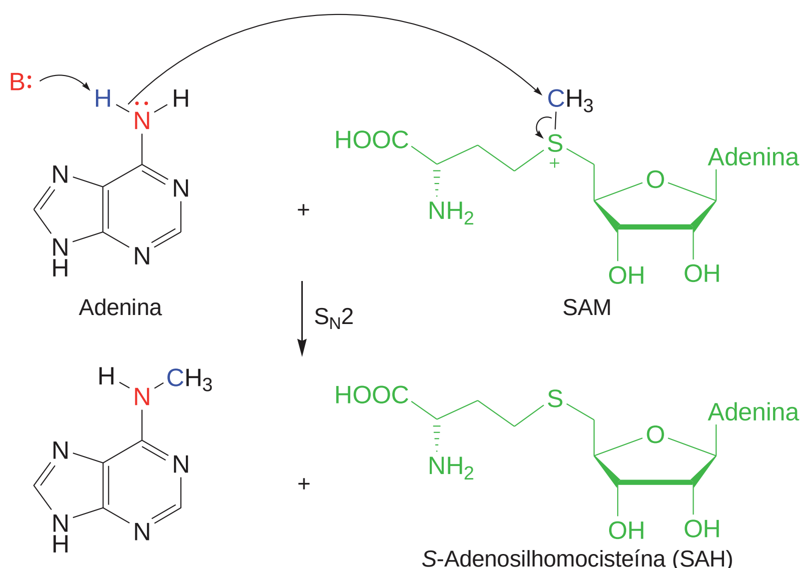


Figura 4.10. Sustitución nucleófila usando la coenzima SAM

4.3.7. Tetrahidrofolato (FH_4)

El ácido fólico (vitamina B_9) es una vitamina hidrosoluble necesaria para la biosíntesis de proteínas y de hemoglobina. En la Figura 4.11 se puede ver su estructura química que consta de: un anillo de pteridina, capaz de aceptar dos protones y dos electrones; un fragmento de ácido *p*-amino benzoico; y un residuo de ácido glutámico, aminoácido que contiene un grupo carboxilo en su cadena lateral. Sin embargo, la coenzima es la forma reducida o tetrahidrofolato (FH_4) (Figura 4.12) y está implicada en reacciones de transferencia de hidruro y de unidades monocarbonadas en las rutas metabólicas.

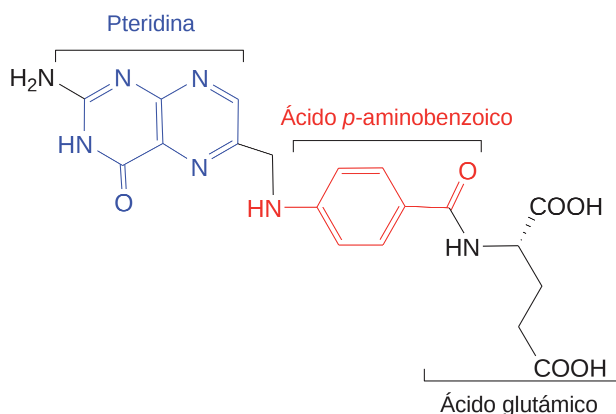


Figura 4.11. Estructura del ácido fólico o vitamina B_9

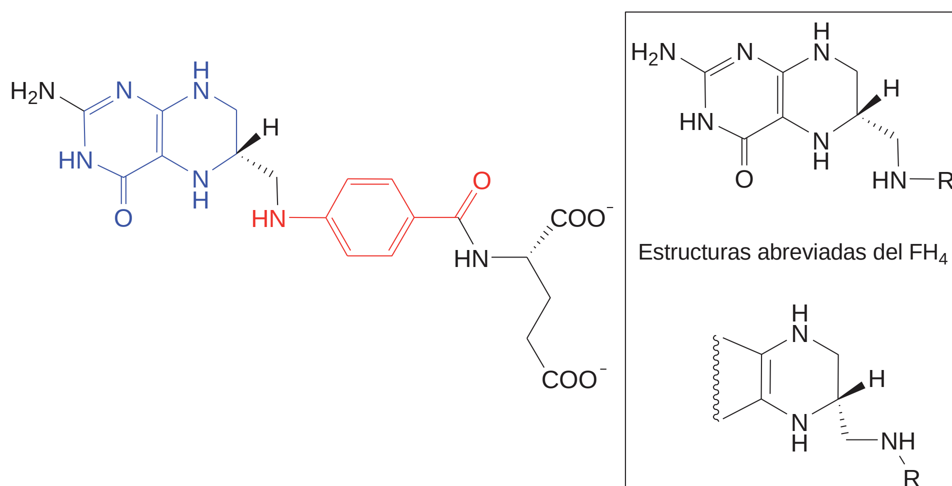


Figura 4.12. Estructura de la coenzima tetrahidrofolato (FH_4)

El modo de acción de esta coenzima está relacionado con la reactividad de los nitrógenos N-5 y N-10 (Figura 4.13). En concreto, el FH_4 forma aductos con las diferentes unidades hidrocarbonadas que es capaz de transferir. Como se puede ver en la Figura 4.13 es la coenzima implicada en la transferencia de grupos metilo ($-CH_3$), formilo (-CHO), metileno ($-CH_2-$), metino (-HC=) y formimino (-CH=NH).

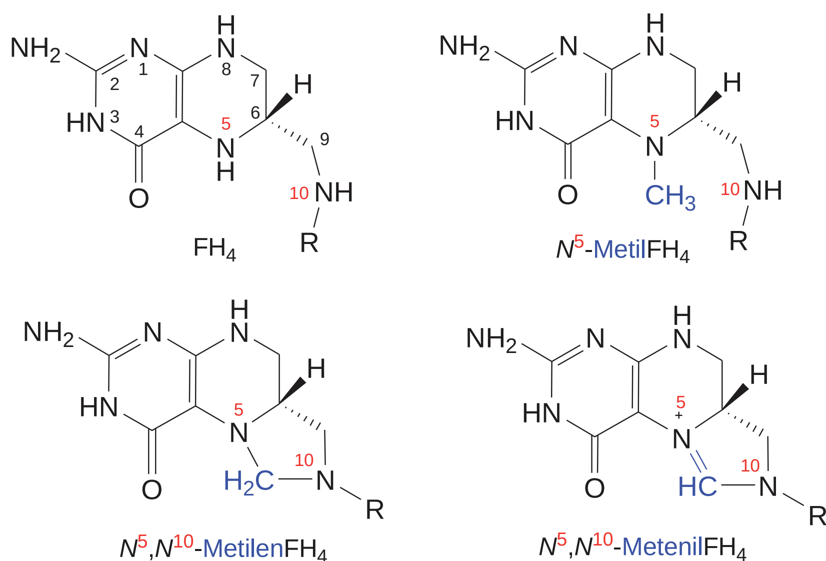


Figura 4.13. Aductos del FH_4

Un ejemplo concreto sería el de la conversión reversible del aminoácido L-serina en el aminoácido glicina catalizada por la enzima *serina hidroximetil transferasa* (Figura 4.14).

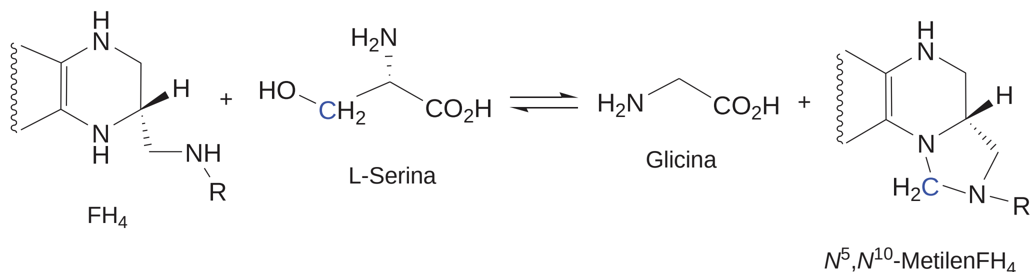


Figura 4.14. Conversión de la L-serina en glicina mediante la coenzima FH_4

El mecanismo de interconversión serina/glicina arriba indicado es complejo y se han propuesto varios modelos. Formalmente implica, bien una reacción retroaldólica (serina → glicina + formaldehído) o una condensación aldólica (glicina + formaldehído → serina). El formaldehído necesario no se encuentra libre en la célula, por ello, es transferido incorporándose al tetrahidrofolato (FH_4); de esta manera se forma el aducto N^5,N^{10}-metilenFH_4 que como puede observarse en la figura 4.15 es un acetal cíclico de nitrógeno.

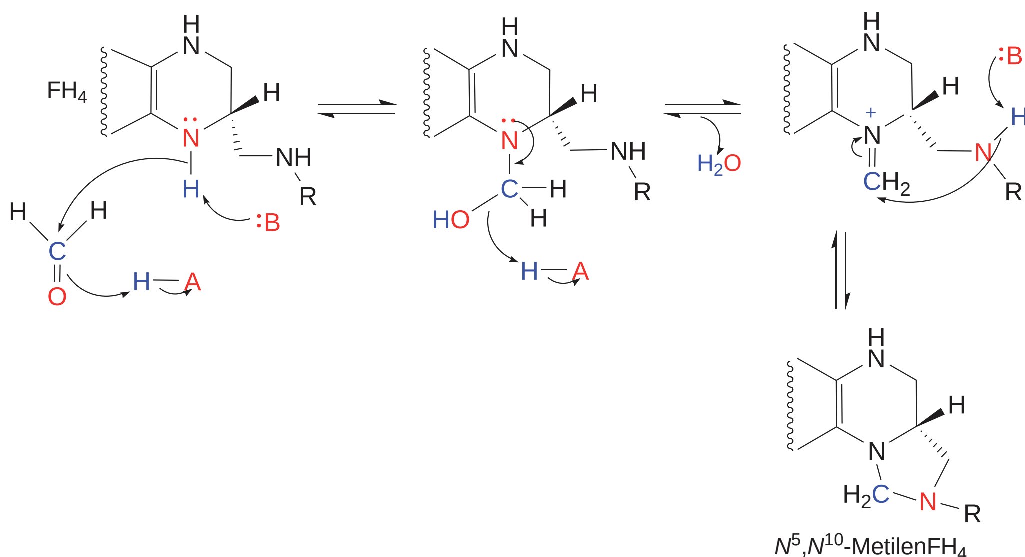


Figura 4.15. Mecanismo de formación del N^5,N^{10}-metilenFH_4

4.3.8. Cobalaminas

Las cobalaminas, que derivan estructuralmente de la vitamina B_{12}, son cofactores complejos desde el punto de vista estructural (Figura 4.16). Contienen un átomo de cobalto, que es indispensable para mantener su estructura y que puede presentar los estados de oxidación (I), (II) y (III) localizado en la parte central de un anillo de corrina que es un derivado tetrapirrólico. Además, hay un anillo de bencimidazol que actúa como ligando del átomo de cobalto, que está hexacoordinado. El grupo R, que también contribuye a la complejación del cobalto puede ser: un grupo metilo (metilcobalamina); un nucleótido de adenosina (adenosilcobalamina o coenzima B_{12}); un grupo ciano (vitamina B_{12} o cianocobalamina); o un grupo hidroxilo (hidroxicoba-

lamina). Estas dos últimas formas no tienen actividad como cofactores solo son las precursoras para la formación de la metil y adenosilcobalaminas.

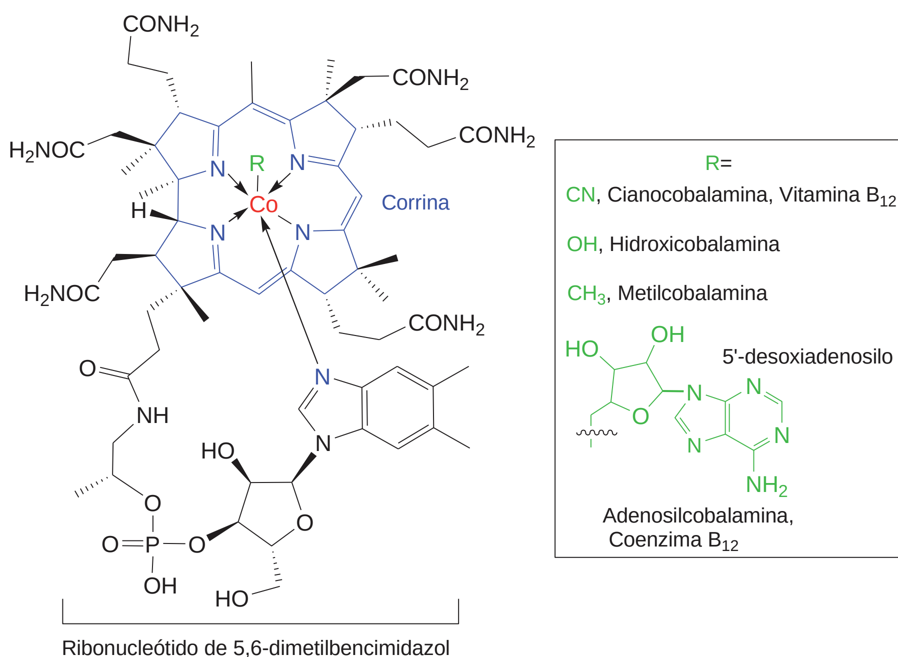


Figura 4.16. Estructuras de las cobalaminas

La metilcobalamina está implicada en la síntesis del aminoácido metionina (*metil transferasas*) y la coenzima B_{12} se encuentra en varias isomerasas, que como se estudiará en el tema 5 (apartado 5.4), catalizan transposiciones via mecanismos radicalarios. El radical se forma por rotura homolítica del enlace cobalto-grupo adenosilo. La reacción más importante que cataliza esta enzima es la transposición del metil malonil-CoA a succinil-CoA, implicada en la degradación de ácidos grasos con número impar de átomos de carbono y en la degradación de aminoácidos como la valina y la leucina.

4.4. COENZIMAS REDOX

4.4.1. Dinucleótidos de nicotinamida y adenina (NAD^+ y $NADP^+$)

Las reacciones de oxidación y reducción o reacciones redox son aquellas en las que se produce una transferencia de electrones entre dos espe-

cies químicas. Los procesos de transferencia de electrones son muy importantes en las rutas metabólicas, sobre todo porque están implicados en el almacenamiento y transferencia de energía de las células. Una de las coenzimas más importantes es el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+) y su fosfato ($NADP^+$) (Figura 4.17).

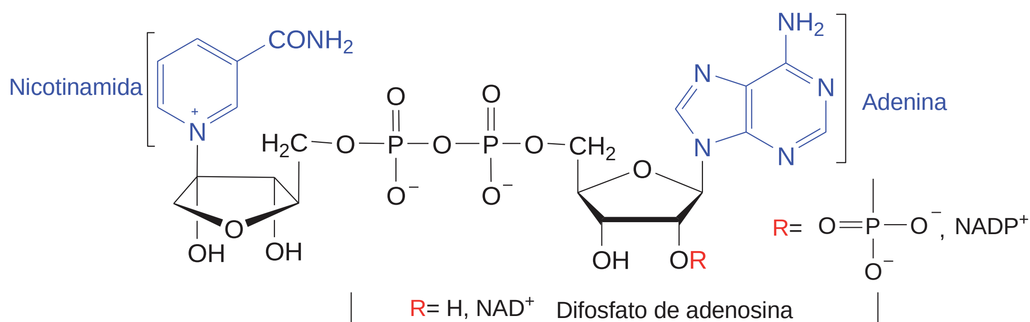


Figura 4.17. Estructuras del NAD^+ y $NADP^+$

Los dinucleótidos de nicotinamida y adenina (NAD^+ y $NADP^+$) están involucrados en las reacciones de las deshidrogenasas. La reacción catalizada consiste en la transferencia formal de un ion hidruro desde un sustrato en forma reducida (por ejemplo, un alcohol) a la coenzima, es decir al NAD^+ o al $NADP^+$, que son las formas oxidadas de estas coenzimas. En la Figura 4.18 pueden verse ambas formas, la oxidada y la reducida.

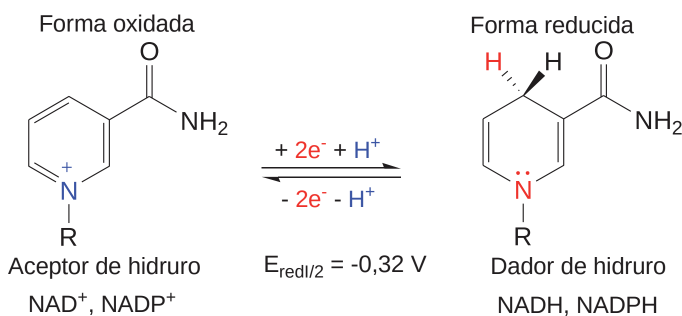


Figura 4.18. Formas oxidada y reducida de las coenzimas NAD^+ y $NADP^+$

Tanto la coenzima NAD^+ como la $NADP^+$ son agentes oxidantes suaves ya que tienen un potencial de reducción negativo, lo que hace que sus formas reducidas (NADH y NADPH) sean agentes reductores muy potentes.

Las enzimas que utilizan NAD^+ como coenzima suelen estar implicadas en las rutas anabólicas mientras que las que usan $NADP^+$ lo hacen en rutas catabólicas. Por ello, la NADH se utiliza para la reducción de cetonas a alcoholes y en ocasiones para la reducción de dobles enlaces en compuestos carbonílicos α,β-insaturados. Los mecanismos de oxidación con NAD^+ o $NADP^+$ de alcoholes o de reducción de compuestos carbonílicos con NADH o NADPH se describirán en el Tema 5 (ver apartados 5.3.3, Figuras 5.16 y 5.17).

El NADH no se encuentra unido por enlaces covalentes a la parte proteica de la enzima, si no por interacciones débiles, como enlaces de hidrógeno o fuerzas de van der Waals, y se recupera al final de la reacción en su forma oxidada, el NAD^+.

4.4.2. Mononuleótido de flavina (FMN) y dinucleótido de flavina y adenina (FAD)

La riboflavina o vitamina B_2 es también una coenzima muy importante y su déficit en el organismo causa dermatitis. El anillo de 7,8-dimetilisoaloxazina (flavina) (Figura 4.19) es la parte activa de esta coenzima y está unido por el N-10 a una cadena de ribitol que puede fosforilarse dando lugar a la coenzima mononucleótido de flavina (FMN) o puede unirse a una unidad de difosfatado de adenosina (ADP) y formar la coenzima denominada dinucleótido de flavina y adenina (FAD) (Figura 4.20).

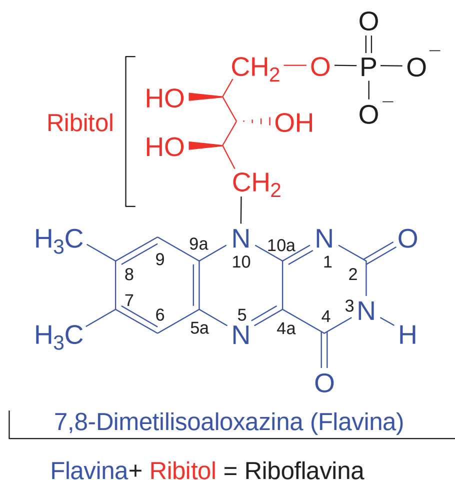


Figura 4.19. Estructura de la coenzima FMN

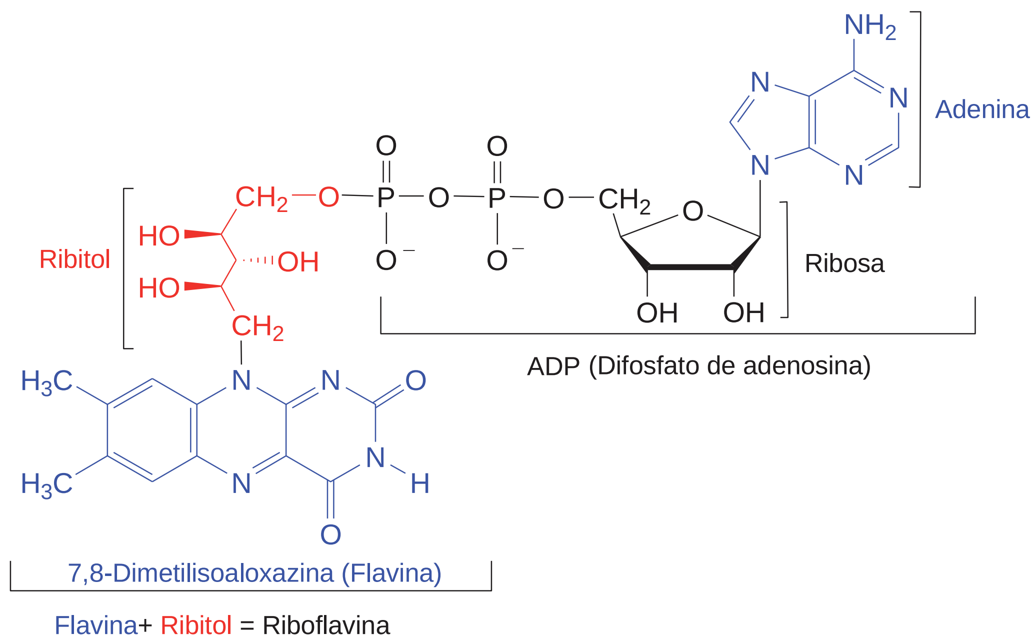


Figura 4.20. Estructura de la coenzima FAD

Las coenzimas FMN y FAD, al contrario que el NAD^+, se encuentran unidas a la parte proteica de la enzima por enlaces covalentes, en ocasiones a residuos de cisteína mediante el CH_3 del C-8 del anillo de isoalozaxina. Como en el caso del NAD^+, el anillo de isoaloxazina presenta una forma oxidada y otra reducida. Los diferentes estados de oxidación se muestran la Figura 4.21.

Este anillo de isoaloxazina presenta la ventaja de poder aceptar secuencialmente dos electrones y dos protones, lo cual no es posible con el NAD^+. Este pequeño detalle hace que pueda reaccionar con el oxidante biológico más potente, el oxígeno. Su potencial redox es modulable, ya que al encontrarse unido fuertemente a la parte proteica de la enzima, su potencial puede variar afectando en su reactividad. Las enzimas más importantes que contienen estas coenzimas son las deshidrogenasas, las oxidasas y las monooxigenasas.

Hay mucha controversia sobre el modo de acción de esta coenzima, pero en general se puede decir que $2e^-$ y $2H^+$ son transferidos del sustrato al anillo de isoaloxazina, que se transforma en isoaloxazina reducida que

revierte a su estado original por agentes oxidantes capaces de transportar electrones como los citocromos, siendo en el caso de las oxidasas, el oxígeno molecular quién desempeña esa función. En el Tema 5 (apartado 5.3.3) se mostrará el mecanismo de transferencia de hidruro que tiene lugar en la primera etapa de la β-oxidación de ácidos grasos.

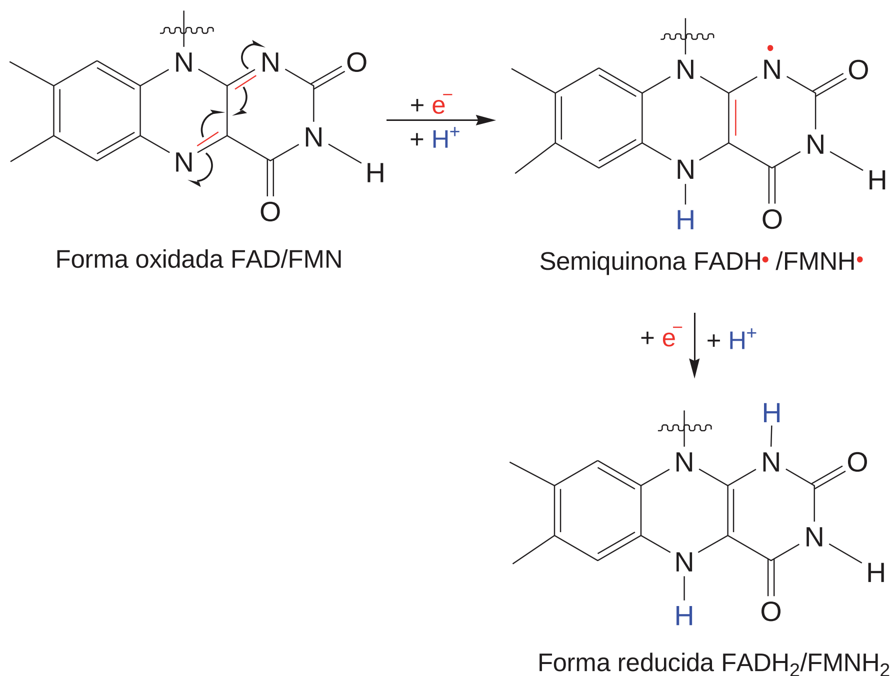


Figura 4.21. Estados de oxidación de la isoaloxazina

4.4.3. Tetrahidrobiopterina (BH_4)

La tetrahidrobiopterina (también llamada sapropterina o BH_4) es químicamente un pteridinona con un grupo ceto y otro amino en las posiciones 4 y 2, respectivamente (Figura 4.22). Es una coenzima esencial en las tres hidroxilasas (monooxigenasas) de aminoácidos aromáticos: la *fenilalanina-4-hidroxilasa* (para la conversión de fenilalanina a tirosina), la *tirosina-3-hidroxilasa* (para la conversión de tirosina a L-dopa), y la *triptófano-5-hidroxilasa* (para la conversión de triptófano a 5-hidroxitriptófano). Esta coenzima proviene de la biosíntesis del ácido fólico (ver apartado 4.3.7).

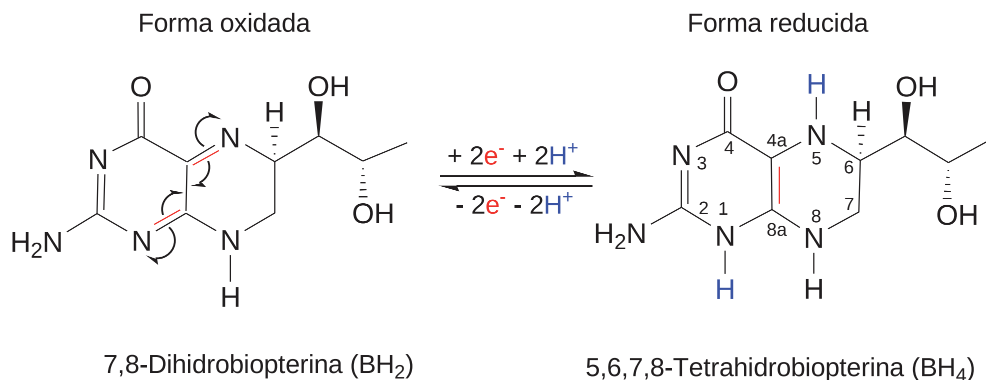


Figura 4.22. Estructura del par redox BH_2 (forma oxidada)/BH_4 (forma reducida)

En las hidroxilasas, la forma reducida de la coenzima BH_4 se oxida a dihidrobiopterina al mismo tiempo que se reduce una molécula de oxígeno para ser después regenerada por otra enzima que utiliza NADPH como agente reductor. La diferencia entre las monooxigenasas que contienen flavina como cofactor y las que contienen tetrahidrobiopterina es que en estas últimas el sustrato que va a experimentar la hidroxilación aromática no posee grupos hidroxilo en posiciones *orto* y *para*.

4.4.4. Ácido L-ascórbico

El ácido L-ascórbico (Figura 4.23) es un agente antioxidante muy eficiente que combate el estrés oxidativo a nivel celular. Su carácter reductor es debido a su estructura química que posee una lactona derivada del furano y dos grupos hidroxilo enólicos que se oxidan muy fácilmente.

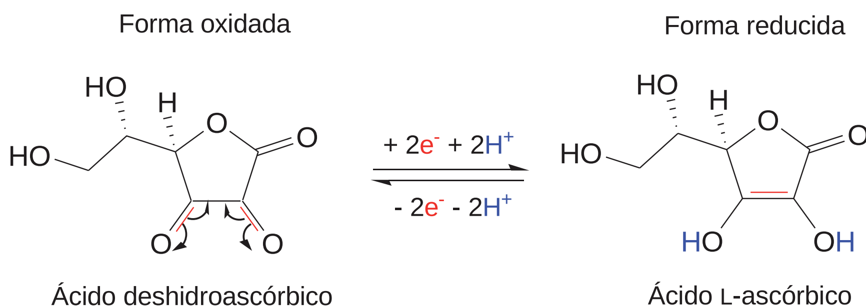


Figura 4.23. Estructuras de las formas oxidada y reducida del ácido ascórbico

A pesar de no tener un grupo carboxílico en su estructura, el ácido L-ascórbico, tal y como su nombre indica, tiene carácter ácido; ello es debido a que al desprotonarse, el anión que se produce se encuentra muy estabilizado por resonancia, siendo la base conjugada estable (Figura 4.24).

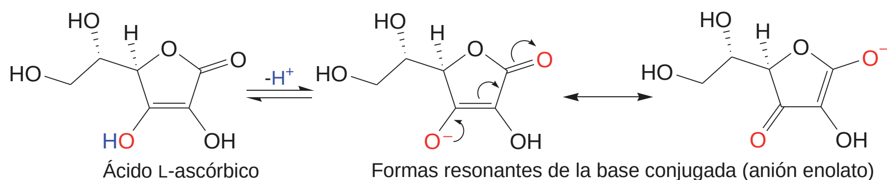


Figura 4.24. Estructuras resonantes del enolato del ácido ascórbico

El ácido ascórbico se encuentra en equilibrio con su forma tautómera ceto que es menos abundante (Figura 4.25). Esta forma ceto es especialmente capaz de interaccionar con una especie radical libre (R*) generando un radical del ácido ascórbico (forma oxidada) que se encuentra estabilizado por resonancia por los electrones de los átomos de oxígeno y es, por ello, mucho menos reactivo. Por tanto, el ácido ascórbico presenta un comportamiento antioxidante terminando reacciones en cadena de radicales y evitando así el daño que va asociado a la presencia de dichos radicales libres en el medio celular. Aún así, y tal y como se muestra en la Figura 4.25, puede aceptar un electrón de otro radical para dar el ácido deshidroascórbico que es la forma completamente oxidada y que en condiciones fisiológicas se encuentra en forma de hemiacetal.

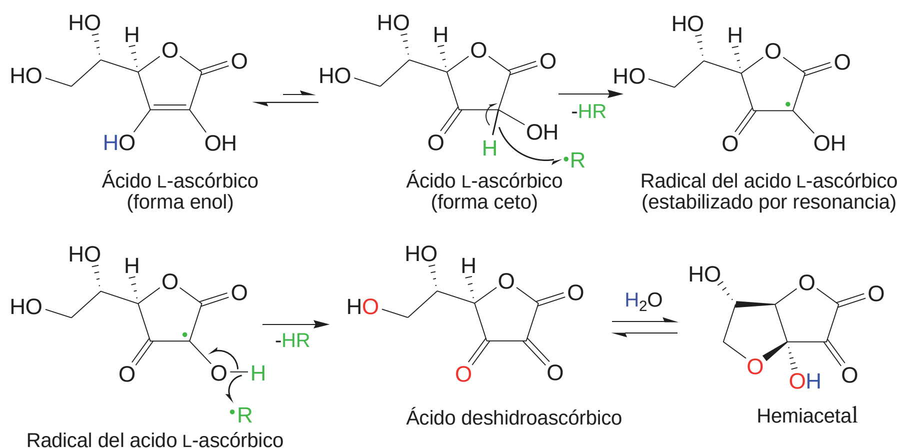


Figura 4.25. Mecanismo de acción como atractor de radicales libres del ácido L-ascórbico

El ácido L-ascórbico está involucrado en la hidroxilación de la prolina y la lisina, en la síntesis del colágeno, en la biosíntesis de las catecolaminas, así como en la degradación de la tirosina.

4.4.5. Ácido lipoico

El ácido lipoico está ampliamente distribuido en microorganismos, plantas y animales y pertenece al grupo de coenzimas que contienen azufre. Su estructura consiste en un anillo que contiene un enlace disulfuro (1,2-ditiolano) unido a un ácido carboxílico de cinco átomos de carbono (Figura 4.26). El 1,2-ditiolano es la parte activa de la coenzima ya que puede aceptar dos electrones y dos protones reduciéndose a un grupo ditiol (-SH) con rotura del anillo pentagonal. Su forma activa es la lipoamida que no es más que el ácido lipoico unido a un residuo de lisina. Solo el enantiómero *R* existe en la naturaleza y es una coenzima esencial de cuatro complejos enzimáticos mitocondriales.

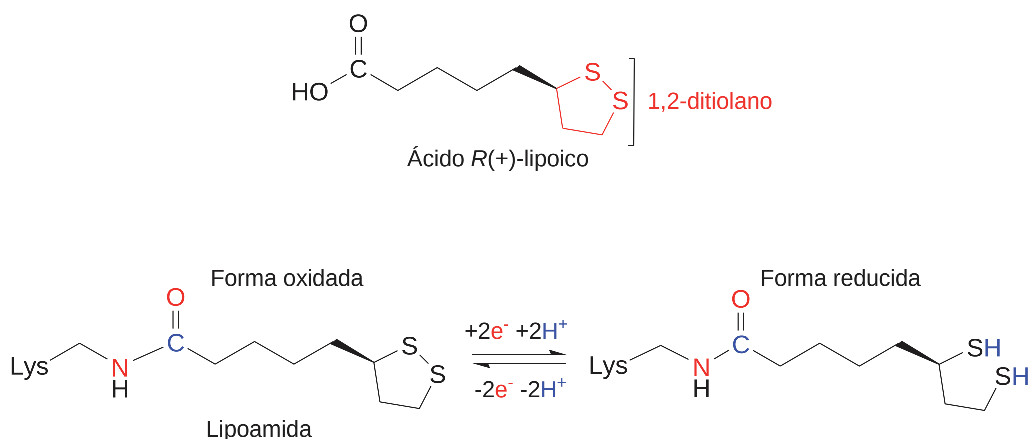


Figura 4.26. Estructuras del ácido lipoico y las formas oxidada y reducida de la lipoamida

El ácido lipoico desempeña un papel importante en la degradación de la glucosa, concretamente en la conversión del piruvato en acetil-CoA, como parte del complejo enzimático *piruvato descarboxilasa* en el que también participa el cofactor TPP (en el Tema 5 se mostrará el mecanismo).

4.5. COFACTORES METÁLICOS

Aunque N, S, O, P, C y H son los elementos básicos utilizados para construir las unidades estructurales de los compuestos bioorgánicos, algunos elementos metálicos son esenciales para el organismo. Los iones metálicos son cofactores comunes y su estudio se inscribe en el ámbito de la química bioinorgánica.

En el campo de la nutrición, la lista de elementos esenciales refleja su papel como cofactores. En los seres humanos esta lista incluye comúnmente cobalto, cobre, hierro, magnesio, manganeso, molibdeno, níquel y zinc. Aunque la deficiencia de cromo provoca intolerancia a la glucosa, no se ha identificado ninguna enzima humana que utilice este metal como cofactor. Por otra parte, el yodo también es un elemento traza esencial, pero este elemento se utiliza como parte de la estructura de las hormonas tiroideas en lugar de como un cofactor de enzimas. El calcio es otro caso especial, es requerido como un componente de la dieta, y es necesario para la actividad completa de muchas enzimas como, por ejemplo, la *sintasa de óxidonítrico* (NOS, por sus siglas en inglés); el calcio activa esta enzima formando un complejo con la calmodulina y, generalmente, no se considera un cofactor de las enzimas que regula. Otros organismos requieren metales adicionales como cofactores enzimáticos, tales como vanadio, volframio e incluso cadmio.

Las enzimas que requieren iones metálicos como cofactores se llaman, a veces, metaloenzimas y en la Tabla 4.2 se muestran algunos ejemplos.

Tabla 4.2. Algunos ejemplos de enzimas que contienen iones metálicos

Metal	Ejemplos de enzimas que contienen iones metálicos
Cobalto	*Metilmalonil-CoA mutasa* (B_{12})
Cobre	*Citocromo oxidasa*
Hierro	*Citocromo* (vía grupo hemo), *nitrogenasa, hidrogenasa*
Magnesio	*Glucosa-6-fosfatasa, hexoquinasa, ADN polimerasa*
Manganeso	*Arginasa*
Molibdeno	*Nitrogenasa, xantina oxidada*
Níquel	*Ureasa*
Zinc	*Alcohol deshidrogenasa, anhidrasa carbónica, ADN polimerasa*

Los iones metálicos participan en las reacciones enzimáticas actuando como ácidos de Lewis o formando quelatos (complejos de coordinación or-

ganometálicos) con la parte proteica de la enzima. Algunas de estas enzimas se han visto ya, como por ejemplo: la *anhidrasa carbónica*, que contiene el ion Zn^{2+}, cuyo mecanismo catalítico se ha indicado en el Tema 3 (apartado 3.3.3); el papel del cobalto en las cobalaminas mostrado en el apartado 4.3.8 y en el Tema 5 (apartado 5.4); y el papel del hierro presente en la familia de citocromos P450 que se describe con detalle en el apartado 5.3.

Un ejemplo sencillo de participación de un ion metálico se muestra en la Figura 4.27. El ion magnesio participa junto con el ATP en los primeros pasos de la biosíntesis de ácidos grasos. El magnesio ayuda a neutralizar las cargas negativas facilitando de este modo la adición nucleófila del grupo carboxilato al fosforo.

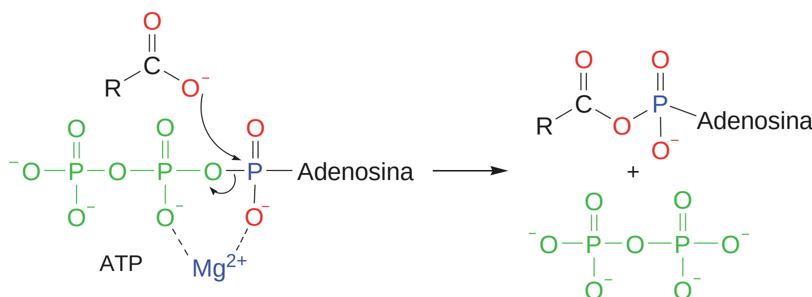


Figura 4.27. ATP activado por coordinación con un ion Mg^{2+}

En otras ocasiones, el papel del cofactor es más complejo, por ejemplo, la enzima *xantina oxidasa* contiene la coenzima FAD, dos clúster de Fe-S y un cofactor oxo-molibdeno (VI) (Figura 4.28).

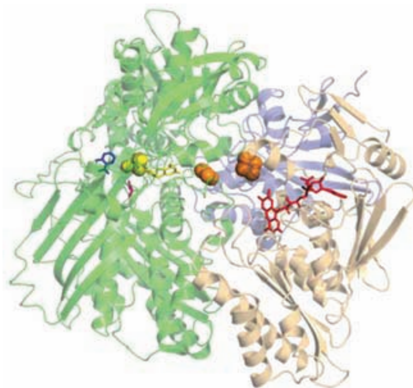


Figura 4.28. Monómero de la *xantina oxidasa bovina*

Esta enzima cataliza la oxidación de hipoxantina a xantina y de ésta hasta el ácido úrico. En la Figura 4.29 se muestra el mecanismo que consiste en una adición nucléofila a un doble enlace C=N, el compuesto formado elimina ion hidruro que se añade al enlace S=Mo reduciendo el molibdeno, de Mo(VI) a Mo(IV). Finalmente tiene lugar la hidrólisis para formar un enol que tautomeriza para obtener la xantina.

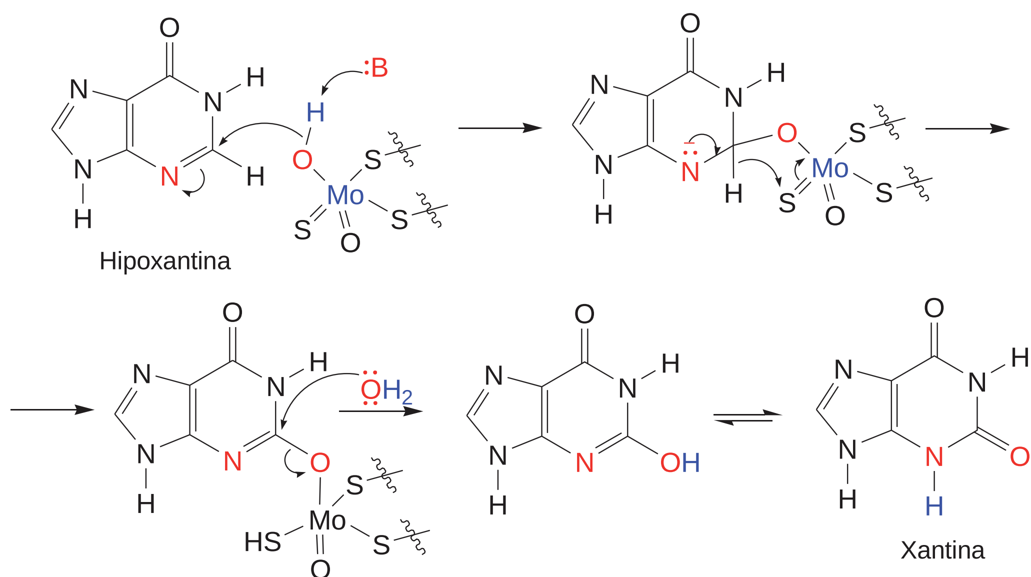


Figura 4.29. Mecanismo propuesto para la oxidación de hipoxantina a xantina

Por último, es importante recordar que alrededor de dos tercios de las enzimas contienen uno o varios metales con funciones específicas en los procesos metabólicos.

CONCEPTOS CLAVE

1. Los cofactores enzimáticos pueden ser cationes metálicos o moléculas orgánicas. En este último caso, las moléculas orgánicas pueden estar unidas de forma covalente o no covalente a la enzima y se denominan coenzimas.
2. Las coenzimas se pueden clasificar según su función química en: coenzimas que transfieren grupos funcionales; y coenzimas que están implicados en reacciones de transferencia de protones y electrones.
3. La coenzima A (CoA) tiene como función principal la transferencia de grupos acilo.
4. La coenzima trifosfato de adenosina (ATP) es la que proporciona energía para activar las reacciones del metabolismo celular mediante la hidrólisis de sus grupos fosfato.
5. La coenzima pirofosfato de tiamina (TPP) interviene en reacciones de descarboxilación y descarboxilación oxidativa de α-cetoácidos.
6. La biotina es una coenzima implicada en la transferencia de CO_2.
7. La coenzima fosfato de piridoxal (PLP) tiene en su estructura un anillo de piridina que es deficiente en electrones y actúa como sumidero de electrones. Interviene en varios tipos de reacciones de α-aminoácidos: descarboxilación, transaminación y racemización.
8. La coenzima *S*-adenosilmetionina (SAM) es la encargada de trasferir grupos metilo a átomos de carbono, nitrógeno u oxígeno.
9. La coenzima tetrahidrofolato (FH_4) está implicada en la transferencia de grupos monocarbonados como, metilo ($-CH_3$), formilo (-CHO), metileno ($-CH_2$), metino (-HC=) y forminino (-CH=NH).
10. La metilcobalamina cataliza transposiciones por via radical. El radical se forma por rotura homolítica del enlace cobalto-grupo adenosilo.
11. Los dinucleótidos de nicotinamida y adenina (NAD^+) y su fosfato ($NADP^+$) están involucrados en reacciones de transferencia formal de un ion hidruro desde un sustrato en forma reducida a la coenzima, es decir, el NAD^+ o el $NADP^+$, que son las formas oxidadas de estos coenzimas y la reacción inversa es catalizada por las formas reducidas, el NADH o el NADPH.

12. Las coenzimas que contienen flavina (FAD y FMN) están involucradas en reacciones de transferencia de $2e^-$ y $2H^+$ del sustrato al anillo de isoaloxazina, que es la parte químicamente activa de su estructura.

13. La tetrahidrobiopterina (BH_4) es una coenzima redox presente en las hidroxilasas de diversos aminoácidos aromáticos como la fenilalanina.

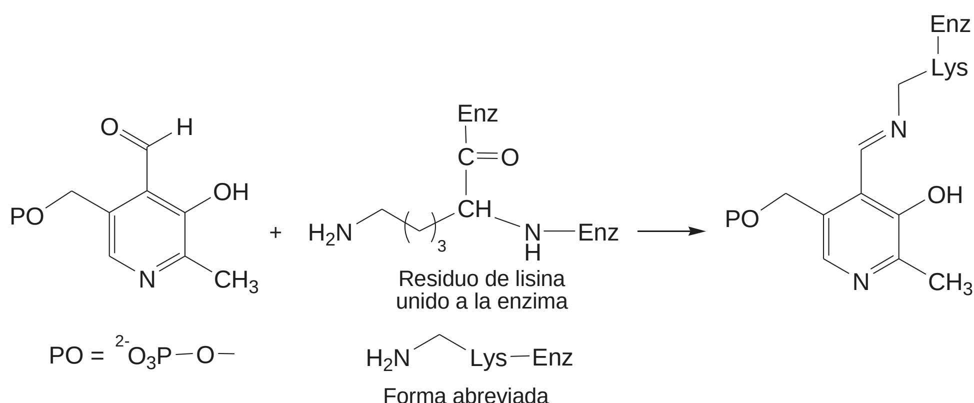
14. El ácido L-ascórbico es una coenzima redox cuya función es la de ejercer como antioxidante.

15. La coenzima redox lipoamida cataliza la descarboxilación oxidativa de α-cetooácidos.

16. Los iones metálicos participan en las reacciones enzimáticas actuando como ácidos de Lewis o formando quelatos con la parte proteica de la enzima.

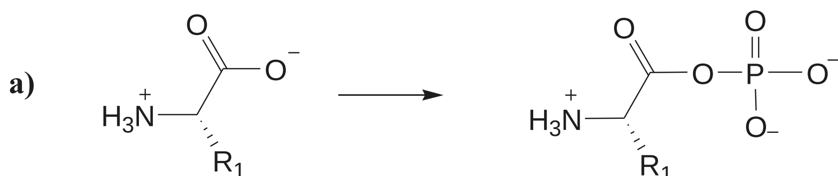
EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

1. Como se ha comentado en el tema al hablar del fosfato de piridoxal (PLP), éste se encuentra unido a la parte proteica de la enzima formando una imina o base de Schiff con la cadena lateral de aminoácido lisina, tal y como se indica en el esquema. Escribir el mecanismo de dicho proceso.

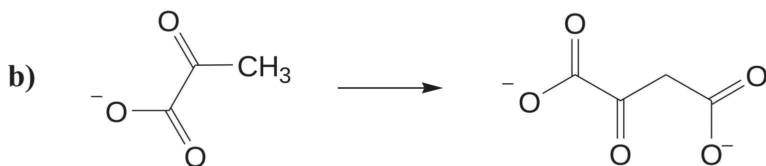


2. Indicar qué coenzimas son las adecuadas para que tengan lugar las siguientes reacciones:

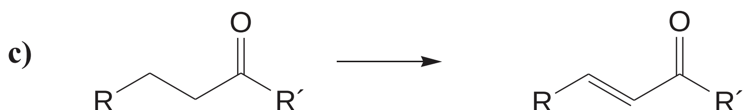
a)



b)

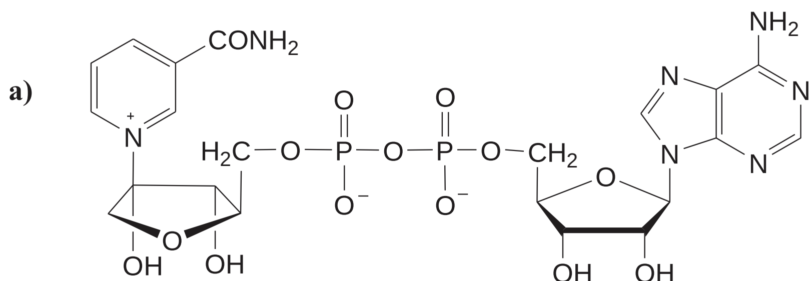


c)

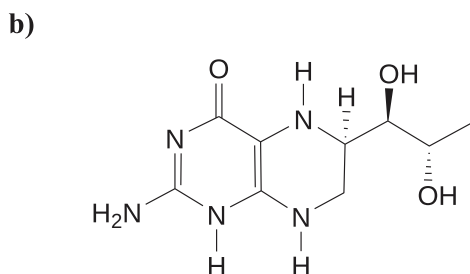


3. Nombrar las siguientes coenzimas junto con su abreviatura. Nombrar también la parte de la estructura que es la químicamente activa e indicar al menos un tipo de reacción donde puedan estar involucradas:

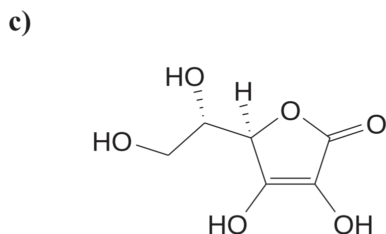
a)



b)



c)



4. Señalar las respuestas correctas:

a) La vitamina B_{12} contiene el catión Mg(II).

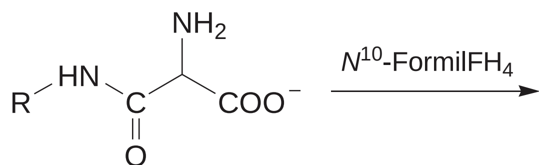
b) El TPP se compone de dos anillos heterocíclicos, uno de piridina y otro de tiazolio, siendo el anillo de piridina el responsable de la actividad catalítica.

c) El NADPH es un agente reductor.

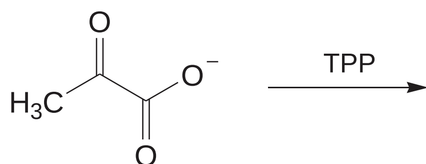
d) La biotina se utiliza en reacciones de transaminación.

5. ¿Qué productos se obtienen en las siguientes transformaciones?

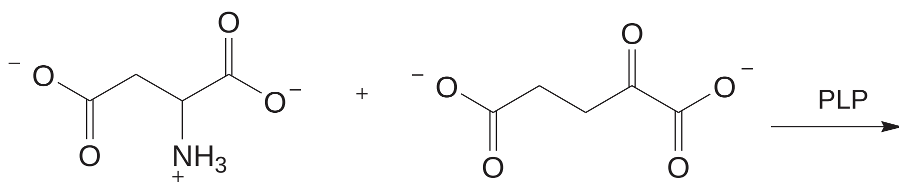
a)



b)

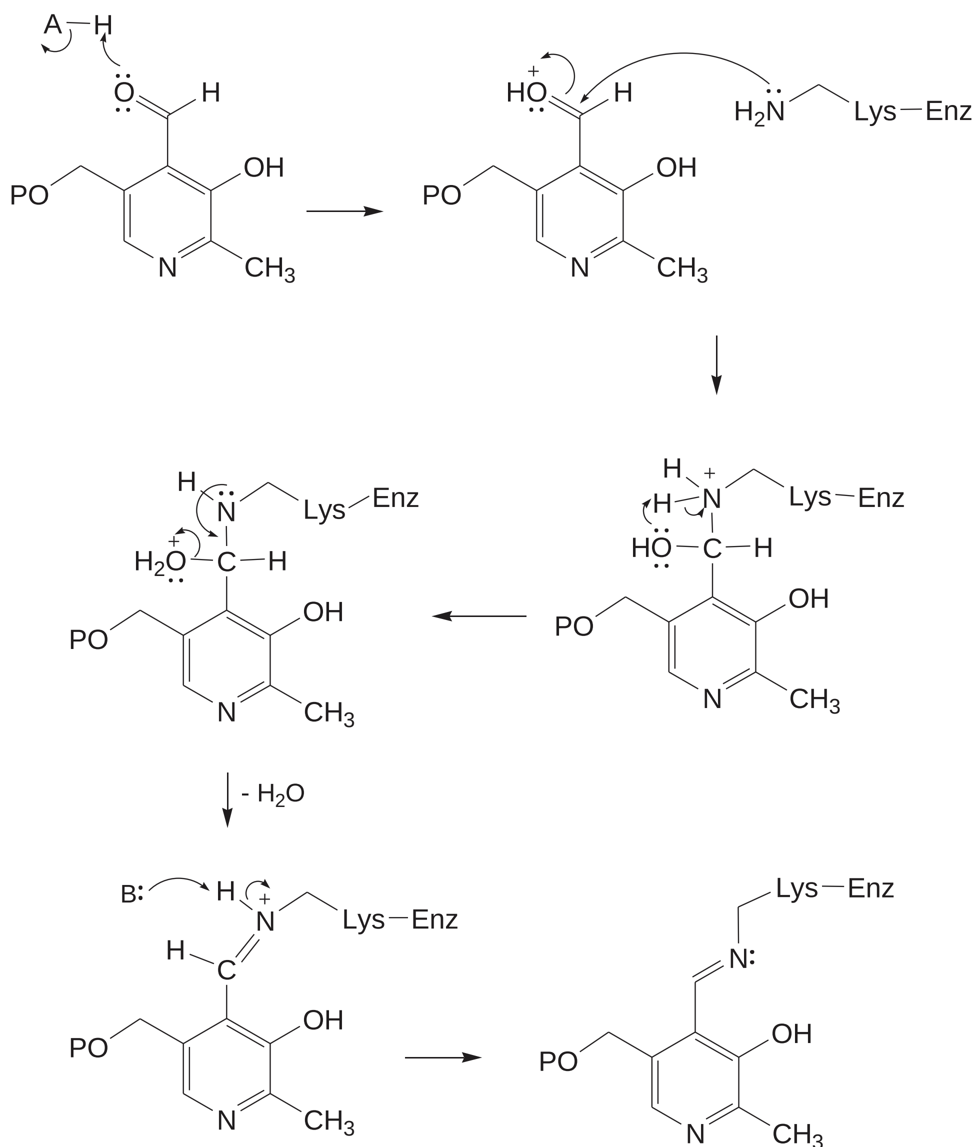


c)

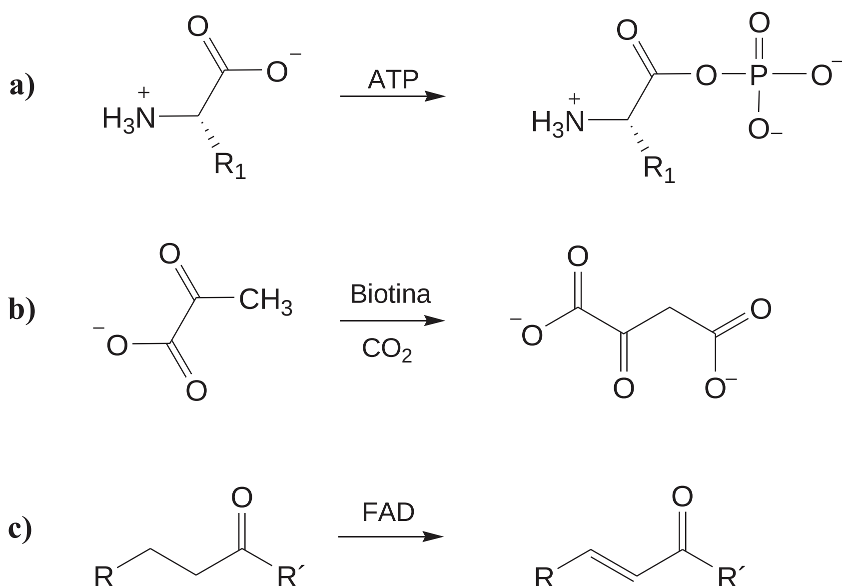


SOLUCIONES A LOS EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

1.



2.



3.

a) Dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD^+); anillo de nicotinamida; reducción de alcoholes a cetonas.

b) Tetrahidrobiopterina (BH_4); anillo de pteridina; hidroxilación de anillos aromáticos.

c) Ácido L-ascórbico; anillo furánico hidroxilado; hidroxilación de prolina y lisina.

4.

a) Falso. Contiene un catión Co(II)

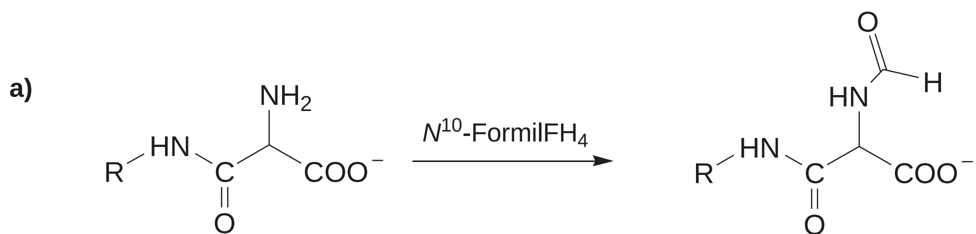
b) Falso. No es un anillo de piridina sino de pirimidina y además la estructura responsable de la actividad catalítica es el anillo de tiazolio.

c) Verdadero. Se oxida para dar NAD^+ mediante la pérdida de dos e^- y H^+.

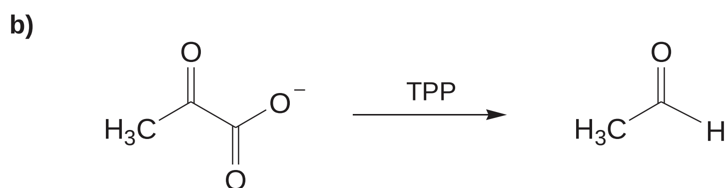
d) Falso. Se utiliza en reacciones de descarboxilación.

5.

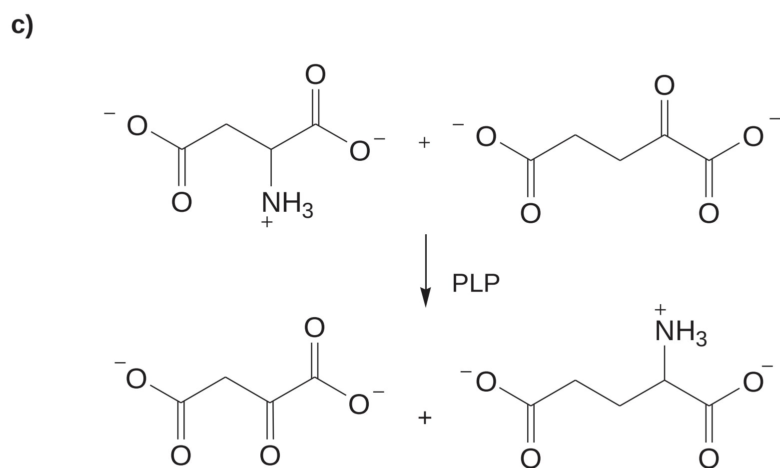
a)


NH2
R
HN
C
O
COO−
N10-FormilFH4
O
H
HN
R
HN
C
O
COO−

b)


O
H3C
O−
O
TPP
O
H3C
H

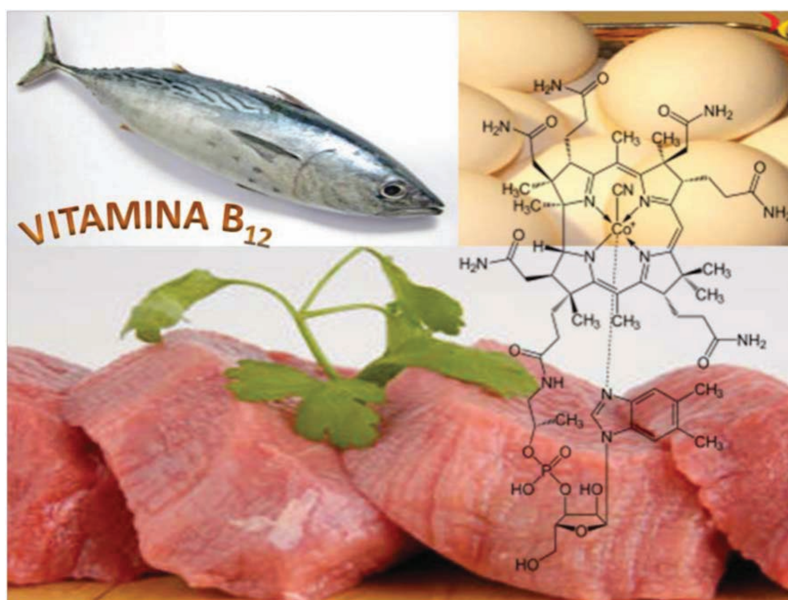
c)


O
−O
O−
O
NH3
+
+
−O
O
O−
O
O
PLP
O
−O
O−
O
O
+
NH3
+
−O
O−
O
O

TEMA 5

PRINCIPALES MECANISMOS EN QUÍMICA BIOORGÁNICA

Dolores Santa María Gutiérrez



La coenzima B_{12} no es biosintetizable por el organismo humano y debe suministrarse en la dieta como vitamina B_{12}

SUMARIO

OBJETIVOS

General

Correlacionar y comparar algunos procesos que tienen lugar en la naturaleza con los mecanismos de reacción más representativos de la química orgánica.

Específicos

1. Aplicar los conocimientos fundamentales de química orgánica a la comprensión de los mecanismos de las reacciones biosintéticas.
2. Identificar y distinguir los diferentes tipos de reacciones (adición, eliminación, sustitución, oxidación, transposición, etc.) que pueden tener lugar en la química bioorgánica.
3. Predecir y proponer los mecanismos para las distintas etapas que constituyen una secuencia biosintética.
4. Identificar el cofactor que debe intervenir en una determinada biotransformación.
5. Formular la parte reactiva de los cofactores más representativos que interviene en el mecanismo de una biotransformación.

5.1. INTRODUCCIÓN

Son muchas las reacciones químicas que tienen lugar en los organismos vivos y básicamente siguen las mismas reglas de reactividad que las reacciones llevadas a cabo en el laboratorio. Como ya se ha comentado en el Tema 3, en los procesos biológicos existen restricciones, relacionadas con la naturaleza y condiciones del medio, que son superadas con la participación de las enzimas Además, en aquellos casos en los que la molécula de partida experimenta cambios en el estado de oxidación o la adición o pérdida de fragmentos, el esqueleto peptídico de la enzima no es capaz por sí mismo de llevar a cabo la biotransformación y la enzima requiere la ayuda de otra molécula no peptídica, los denominados cofactores y coenzimas, cuyas estructuras y función han sido estudiadas en el tema anterior. Así pues, se puede afirmar que los mecanismos por los que transcurren las reacciones biosintéticas pueden ser entendidos y explicados por medio de la química orgánica.

En este Tema se presentan algunos ejemplos de las transformaciones biosintéticas más representativas que implican la formación, modificación o rotura de enlaces carbono-carbono y carbono-heteroátomo y se ha optado por una división en función del tipo de reacción en vez de por la clase de cofactor implicado.

5.2. FORMACIÓN, MODIFICACIÓN O ROTURA DE ENLACES CARBONO-CARBONO

5.2.1. Sustitución nucleófila

Las reacciones de alquilación transcurren mediante mecanismos totalmente análogos a los conocidos de la química orgánica clásica, es decir, mecanismos S_N1 y S_N2. La diferencia radica en el tipo de grupo saliente, que no es un halógeno ni un sulfonato sino que, generalmente, se trata de un grupo fosfato.

En la naturaleza, la reacción de metilación (*O*-, *N*- o *C*-metilación) se lleva a cabo por el agente metilante *S*-adenosilmetionina (SAM). Ejemplos de *N*- y *O*-metilación se verán en la siguiente sección y aquí se mostrará un ejemplo para la formación de un enlace carbono-carbono. Ya se ha visto que la SAM es una sal de sulfonio que experimenta ataques nucleófilos S_N2 en el carbono del metilo unido al azufre, rompiéndose el enlace C-S y convirtiéndose en *S*-adenosilhomocisteína (SAH) (Figura 5.1).

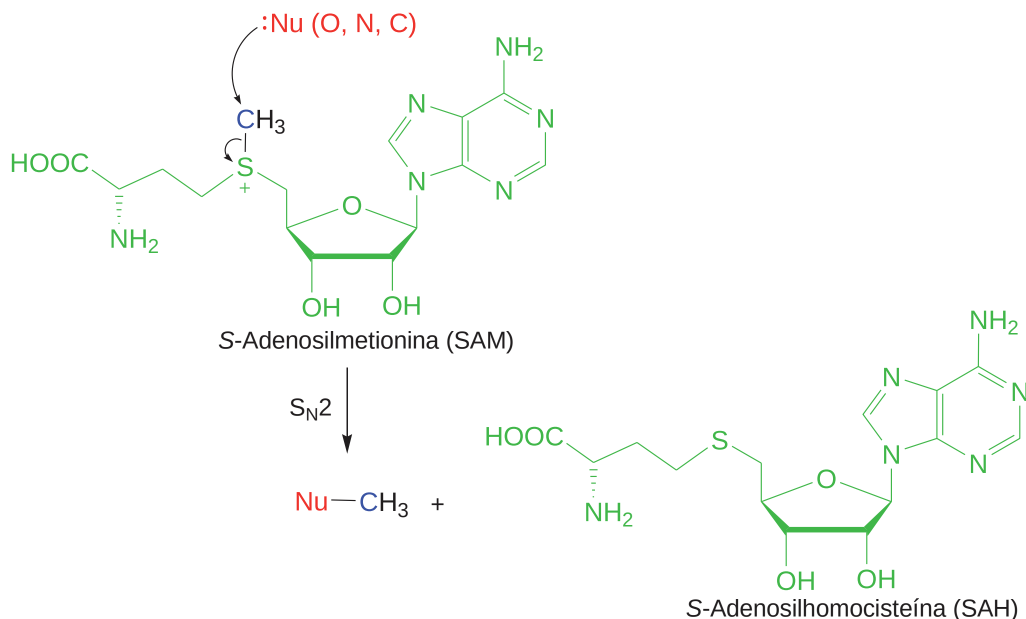


Figura 5.1. Los procesos de metilación mediados por la SAM transcurren por S_N2

Para el caso que nos ocupa de formación de enlaces carbono-carbono, se requiere un carbono nucleófilo. Así, por ejemplo, las posiciones *orto* o *para* de un anillo de fenol o los carbonos adyacentes a uno o más grupos carbonilo son buenos candidatos nucleófilos para que se produzca la *C*-metilación con SAM (Figura 5.2).

5.2.2. Adición electrófila

Como se verá en el Tema 8, en la biosíntesis de terpenos y esteroides, dos o más unidades de isopreno se unen mediante un mecanismo que implica la formación inicial de un carbocatión y adición posterior de éste a un alqueno.

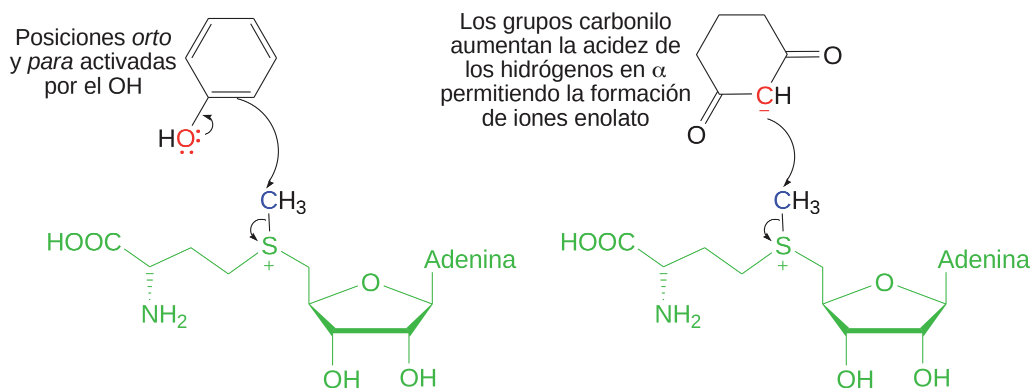


Figura 5.2. Ejemplos de *C*-metilación con SAM

Un ejemplo lo constituye el α-terpineol, sustancia que se aísla del aceite de pino y que se utiliza en perfumería. En este caso, se trata de una adición electrófila intramolecular en la que el precursor, el pirofosfato de linalilo, se disocia dando lugar a la pérdida del ion pirofosfato (PPO) y formación de un carbocatión alílico (estabilizado por resonancia), el cual se adiciona al doble enlace dando lugar a un segundo carbocatión que reacciona con el agua para dar el α-terpineol (Figura 5.3).

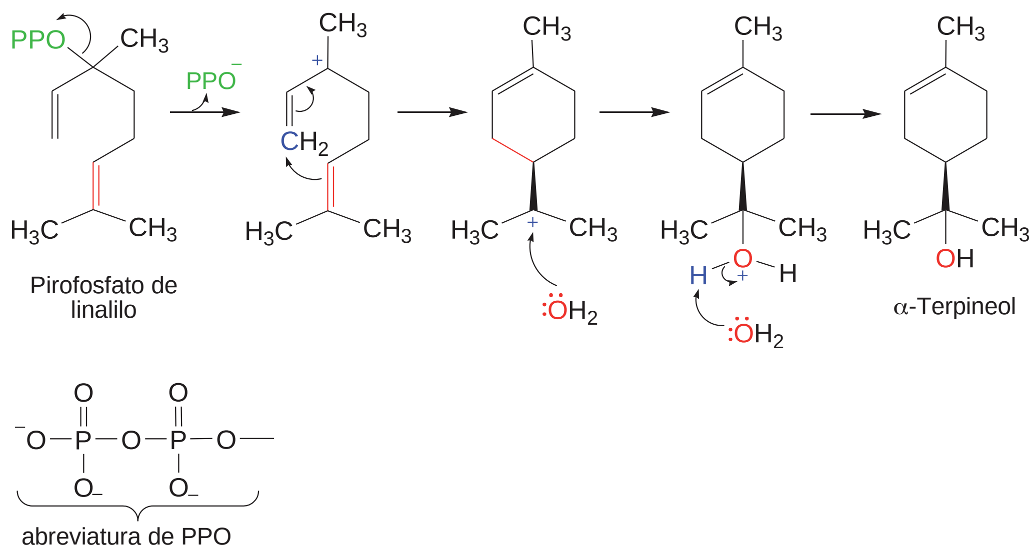


Figura 5.3. La biosíntesis del α-terpineol ocurre mediante una reacción de adición electrófila

La síntesis del pirofosfato de geranilo, que se muestra en la Figura 5.4, constituye otro ejemplo de adición electrófila de un carbocatión a un doble enlace.

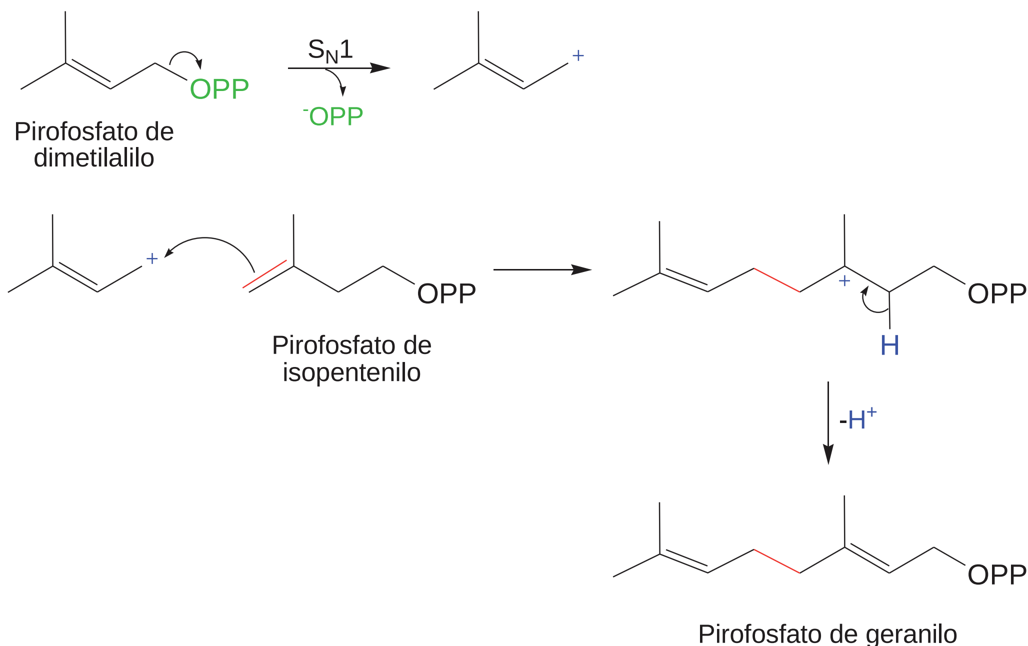


Figura 5.4. Biosíntesis del pirofosfato de geranilo por reacción de adición electrófila

5.2.3. Condensaciones aldólica y de Claisen

En la síntesis orgánica de laboratorio las reacciones de condensación tipo aldólico, incluyendo la condensación de Claisen, son de gran utilidad para la formación de enlaces carbono-carbono. También, a nivel biológico, la formación de dichos enlaces C-C son de gran importancia, sin embargo, la principal diferencia entre las reacciones *in vitro* e *in vivo* son los reactivos utilizados. Mientras que en el laboratorio puede utilizarse cualquier tipo de compuesto carbonílico, en la célula existen restricciones relacionadas con la existencia de un medio acuoso y unas condiciones estrictas de pH y temperatura. Así, los componentes electrófilos no son nunca ácidos, ésteres o amidas sino tioésteres, generalmente derivados de la coenzima A. A su vez, el componente nucleófilo del proceso (enol o enolato) puede generarse bien

por desprotonación mediada por un resto básico de la enzima o, alternativamente, por descarboxilación del anión de un β-cetoácido (Figura 5.5). Todos estos procesos son, además, fácilmente reversibles por lo que pueden producirse en sentido inverso (reacciones retroaldólicas y retro-Claisen)

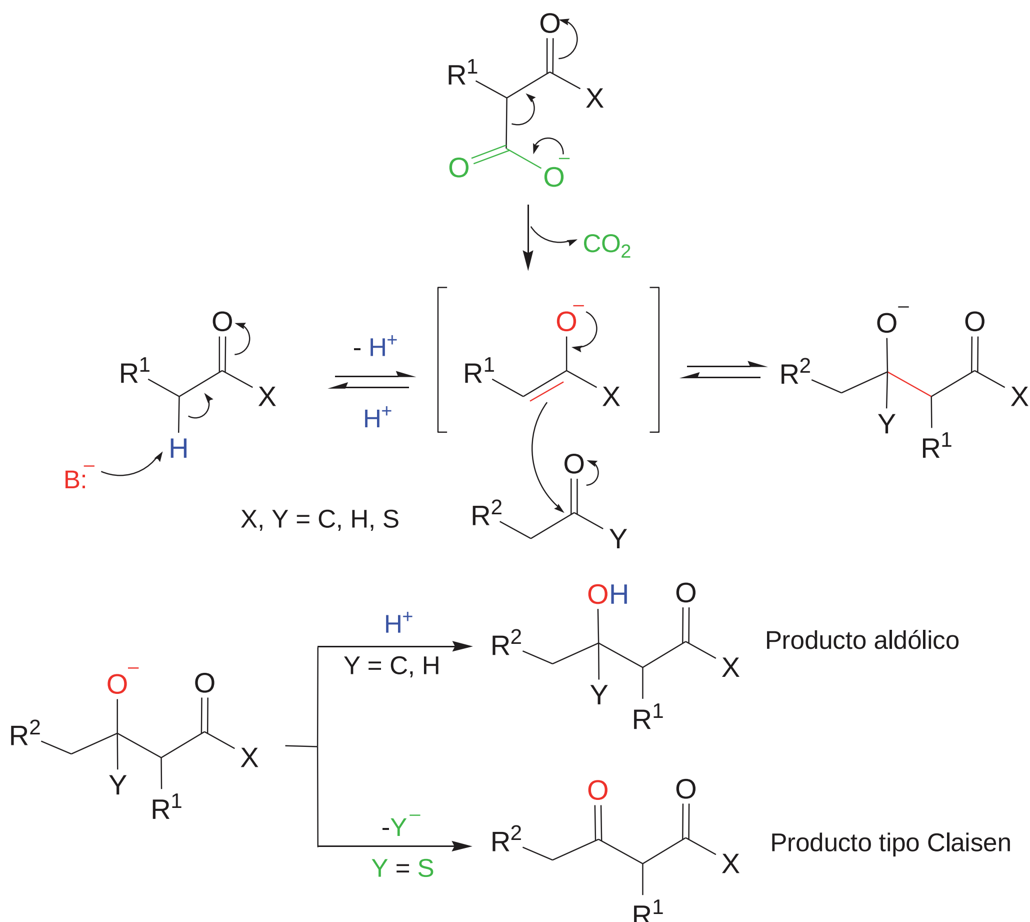


Figura 5.5. Reacciones de tipo aldólico y de Claisen

Como se observa en la Figura 5.5, que se forme el producto de condensación aldólica o el de tipo Claisen va a depender de la naturaleza del grupo Y y su capacidad como grupo saliente. Así, a nivel de síntesis en el laboratorio, dos moléculas de acetaldehído dan el producto aldólico mientras que dos de acetato de etilo el de condensación de Claisen.

Estos procesos son vitalmente importantes en bioquímica en la elaboración de metabolitos tanto secundarios como primarios. Como ya se ha comentado, en la mayoría de los casos las reacciones implican ésteres de la coenzima A como, por ejemplo, la acetilcoenzima A (acetil-CoA). Al tratarse de un tioéster del ácido acético tiene la ventaja que el hidrógeno en α es más ácido que el de un éster de oxígeno (por ejemplo, el acetato de etilo) y, por tanto, se favorece la formación del ion enolato. Ello se explica en términos de deslocalización electrónica en la función éster; al ser el oxígeno más pequeño que el azufre el par de electrones está más próximo para solapar con los orbitales del carbono. Otro efecto que incrementa la reactividad para las reacciones de condensación aldólica y de Claisen es el hecho de que el azufre del tioéster es mucho mejor grupo saliente que el oxígeno del éster.

Veamos un ejemplo. La síntesis de la acetoacetil-CoA se produce por reacción de condensación de Claisen entre la acetil-CoA (electrófilo) y la malonil-CoA (nucleófilo) (Figura 5.6).

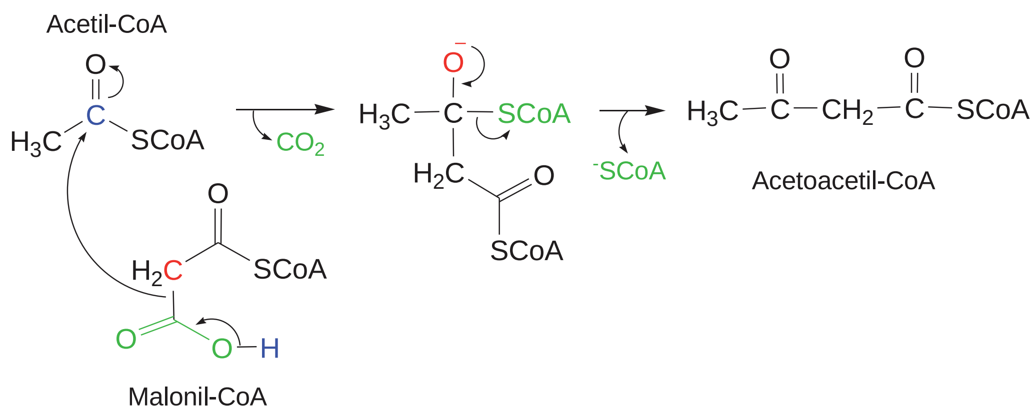


Figura 5.6. Síntesis de la acetoacetil-CoA por reacción de condensación de Claisen

5.2.4. Carboxilaciones y descarboxilaciones

Como ya se ha comentado en el tema anterior la coenzima biotina está implicada en el transporte de CO_2 e interviene, por tanto, en muchos procesos de carboxilación y descarboxilación. En bacterias y animales, la carboxilación en el carbono α a un grupo carbonilo suele llevarse a cabo por

la coenzima *N*-carboxibiotina. Un ejemplo lo constituye la tercera etapa de la biosíntesis de ácidos grasos en la que se forma malonil-CoA a partir de acetil-CoA (Figura 5.7).

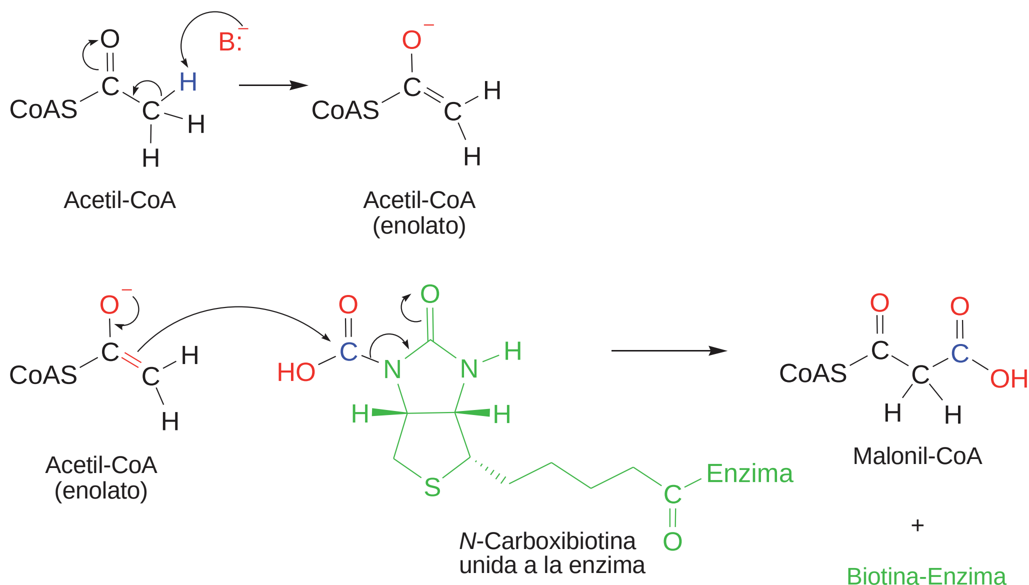


Figura 5.7. Mecanismo de acción de la *N*-carboxibiotina en reacciones de carboxilación

Por otro lado, en la síntesis de productos naturales muy a menudo hay alguna etapa en la que se elimina un átomo de carbono por reacción de descarboxilación. Las descarboxilaciones pueden darse por diferentes mecanismos, todos ellos tienen en común la presencia de un grupo electrón atrayente a dos átomos de carbono de distancia del carboxilato que se va a eliminar.

En el laboratorio (*in vitro*), los β-cetoácidos son térmicamente lábiles y rápidamente se descarboxilan vía un mecanismo cíclico. Reacciones similares ocurren en la naturaleza, aunque el mecanismo cíclico no está claro si es necesario. Por ejemplo, los ácidos *orto*-fenólicos se descarboxilan rápidamente *in vivo* a través del tautómero ceto y se podría proponer un proceso de descarboxilación cíclico (Figura 5.8). Sin embargo, aunque para el ácido *para*-fenólico no se puede dibujar dicho estado de transición cíclico, el tautómero ceto también activa el sistema para la descarboxilación. Por ello, se duda si el mecanismo cíclico propuesto para el derivado *orto*-fenólico es necesario.

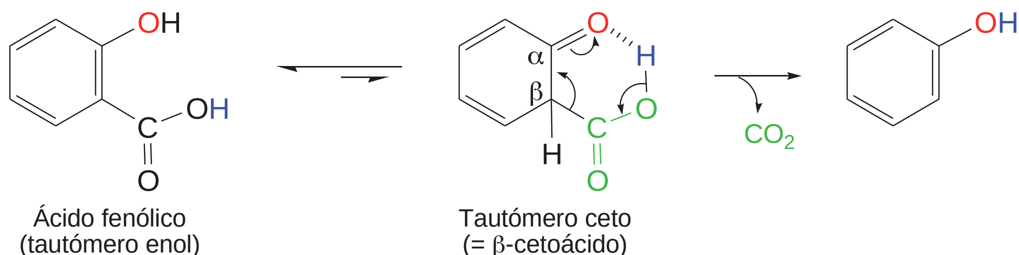


Figura 5.8. Reacción de descarboxilación del ácido *orto*-fenólico

Alternativamente, el grupo electrón atrayente en posición β al grupo carboxilato puede ser sustituido por un buen grupo saliente como el ion fosfato. Así, por ejemplo, en la ruta del mevalonato para la biosíntesis de terpenos, que se estudiará en el Tema 8, hay una etapa en la que el 3-fosfomevalonato-5-pirofosfato se convierte en pirofosfato de isopentenilo por disociación espontánea del enlace carbono-fosfato para formar un carbocatión terciario, el cual experimenta la descarboxilación (Figura 5.9).

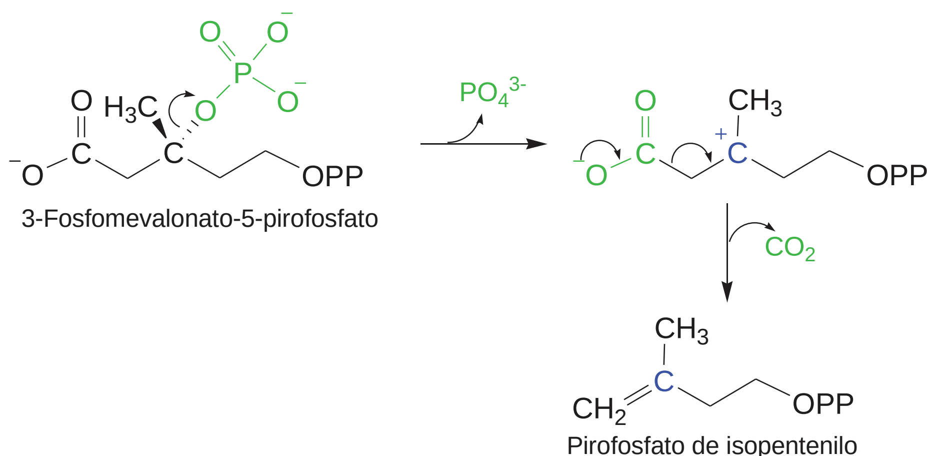


Figura 5.9. Reacción de descarboxilación del 3-fosfomevalonato-5-pirofosfato

En lo referente a la descarboxilación de α-cetoácidos, hay que decir que es una reacción dependiente del pirofosfato de tiamina (TPP). Como ya se ha visto en el Tema 4 (apartado 4.3.3), el TPP es una coenzima que contiene un anillo de tiazolio con un hidrógeno ácido capaz de dar un carbanión y poder actuar, de este modo, como nucleófilo hacia grupos carbonilo.

La descarboxilación del ácido pirúvico en acetaldehído o la descarboxilación del *p*-hidroxifenilpiruvato en la biosíntesis de la morfina, constituyen ejemplos de este tipo de descarboxilación (Figura 5.10).

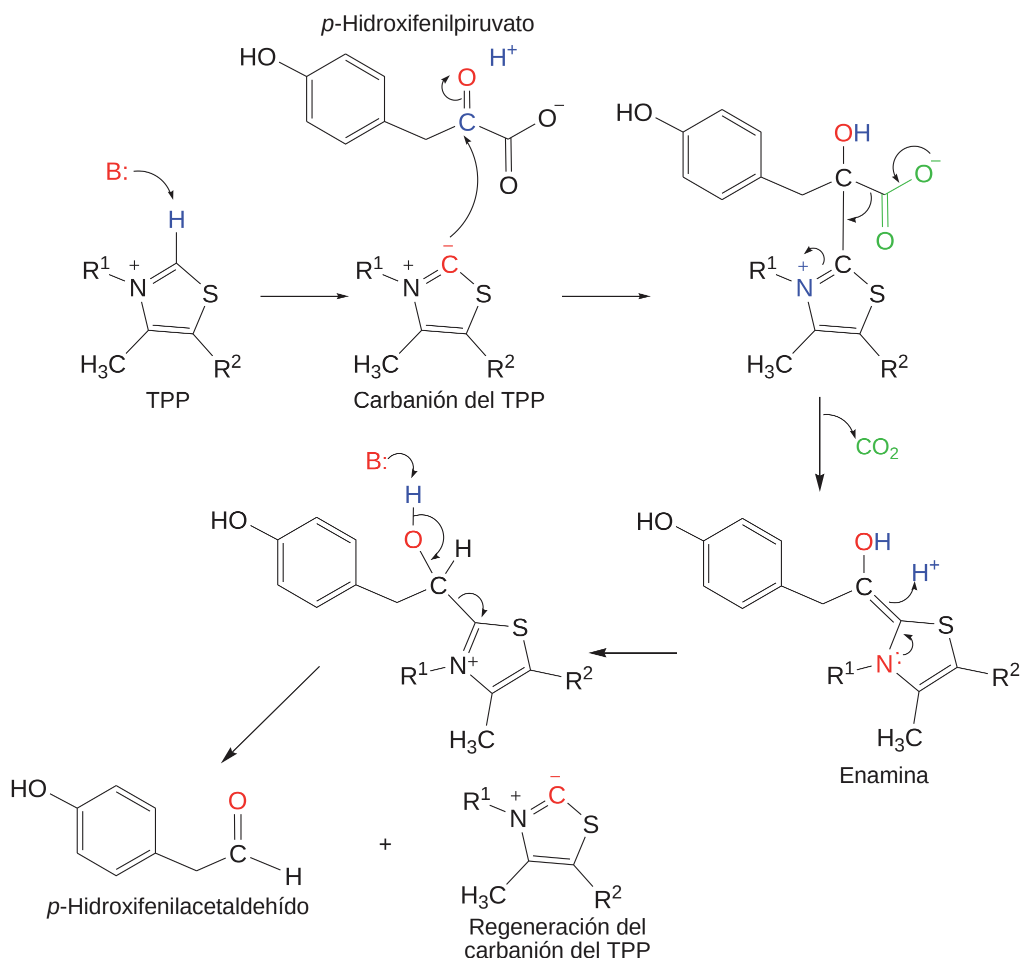


Figura 5.10. Mecanismo de acción del TPP en la descarboxilación del *p*-hidroxifenilpiruvato

Otra reacción enzimática donde está implicado el TPP es la degradación de la D-glucosa, concretamente en la conversión del ácido pirúvico en acetil-CoA (descarboxilación oxidativa). El mecanismo de reacción es similar al mostrado en la Figura 5.10 pero en este caso, la enamina, en vez de aceptar un protón, ataca al átomo de azufre de un segundo cofactor, el ácido lipoico (ver Ejercicio de autocomprobación n.º 6).

Por último, no menos importante, es el proceso de descarboxilación de α-aminoácidos mediado por enzimas dependientes del fosfato de piridoxal (PLP). Como ya se ha comentado en el tema anterior, el PLP interviene en una gran variedad de biosíntesis, todas ellas relacionadas con el metabolismo de aminoácidos.

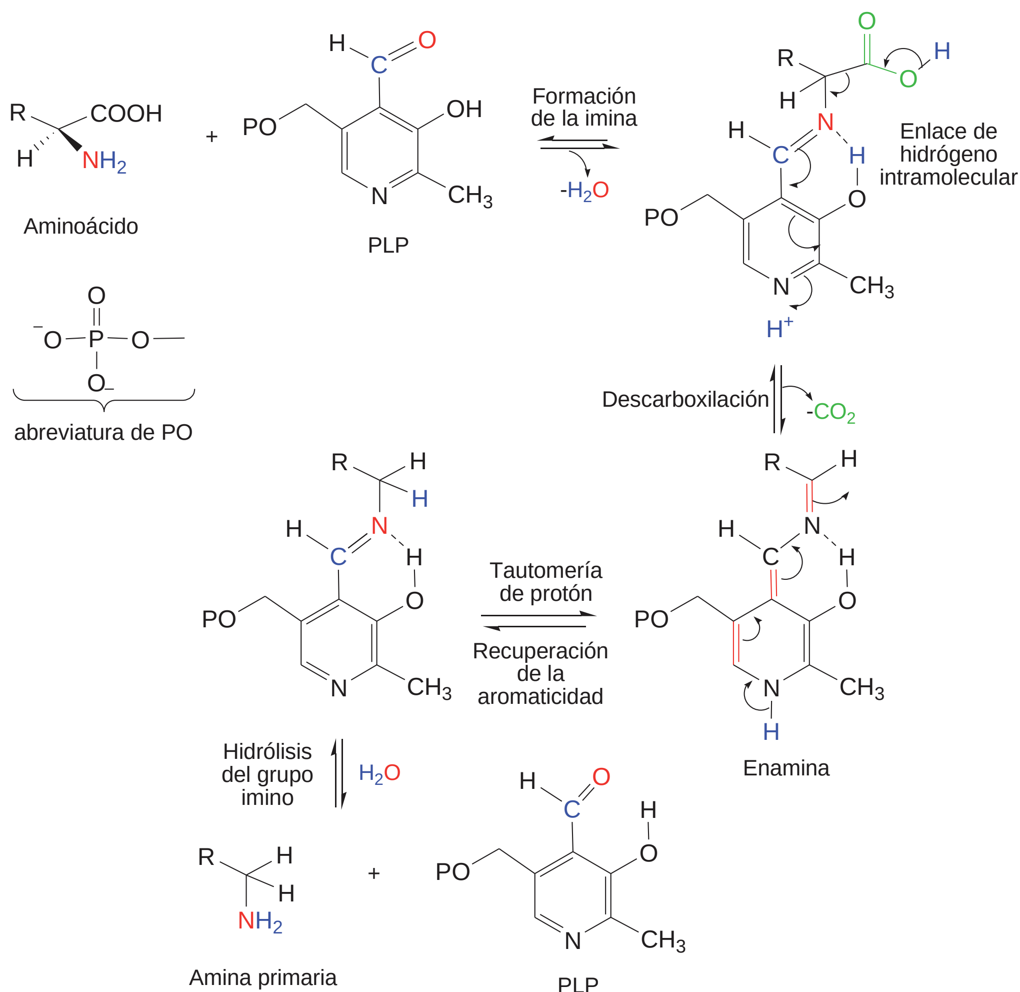


Figura 5.11. Mecanismo de acción del PLP en la descarboxilación de α-aminoácidos

El mecanismo de descarboxilación de α-aminoácidos se muestra en la Figura 5.11. En primer lugar se forma la base de Schiff entre el aminoácido y la coenzima, a continuación, se produce la descarboxilación por rotu-

ra del enlace C-COOH, deslocalizándose la carga negativa incipiente gracias al efecto atractor de electrones del anillo piridínico. La enamina así formada experimenta un proceso tautomérico de protón para dar, tras la hidrólisis del grupo imino, la amina primaria (producto de descarboxilación) y el fosfato de piridoxal regenerado.

5.3. FORMACIÓN, MODIFICACIÓN O ROTURA DE ENLACES CARBONO-HETEROÁTOMO

5.3.1. Sustitución nucleófila

En la estructura de muchos productos naturales es posible encontrar grupos metilo unidos a átomos de oxígeno o nitrógeno. Dichos fragmentos se producen por metilación de los correspondientes átomos nucleófilos (O, N) de aminas, alcoholes, fenoles o ácidos carboxílicos. En todos los casos, el agente metilante es la *S*-adenosilmetionina (SAM) y recordemos que la reacción transcurre por un mecanismo S_N2.

Un ejemplo de *N*-alquilación con SAM se observa en la transformación biosintética de la norepinefrina en epinefrina (adrenalina) (Figura 5.12).

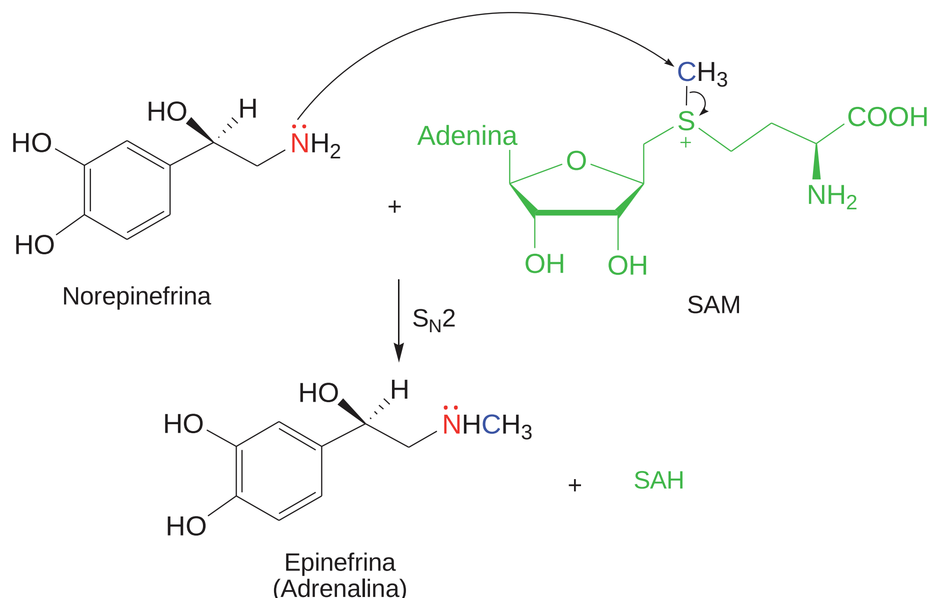


Figura 5.12. Ejemplo de *N*-metilación con SAM

También existen transformaciones que transcurren por sustitución nucleófila unimolecular (S_N1), como es el caso de la transformación biosintética del pirofosfato de geranilo en geraniol (Figura 5.13), un fragmento alcohólico que se encuentra en las rosas y que se utiliza en perfumería.

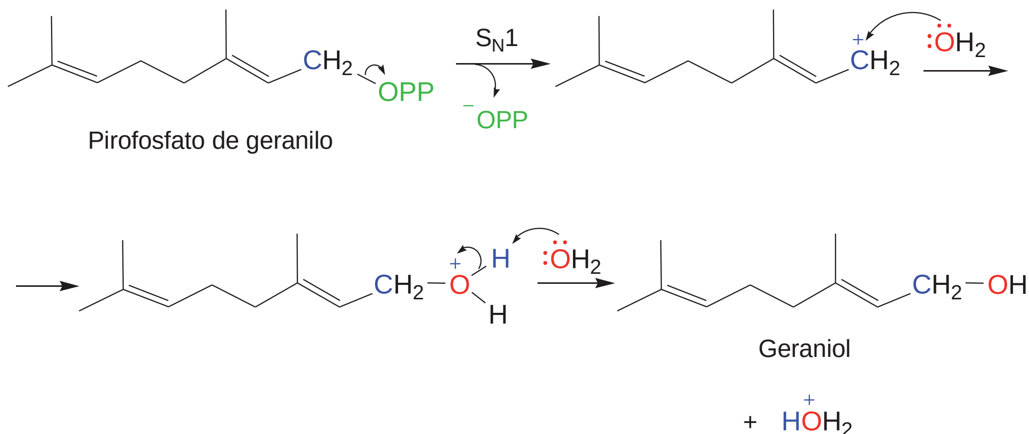


Figura 5.13. Ejemplo de transformación por S_N1

5.3.2. Procesos de transaminación

Este tipo de procesos están relacionados directamente con el control y gestión metabólica del nitrógeno y, generalmente, son transformaciones dependientes del fosfato de piridoxal (PLP) que, como ya se comentó en el apartado 5.2.4, participa en una gran variedad de misiones biosintéticas relacionadas con el metabolismo de α-aminoácidos. Así, la transaminación es el método más común para introducir un grupo amino en un α-cetoácido y formar el α-aminoácido (aminación) o, por el contrario, si el proceso es el inverso, producir la eliminación del grupo amino de un α-aminoácido para dar lugar al α-cetoácido (desaminación).

En la Figura 5.14 se muestra el mecanismo para la desaminación. La imina o base de Schiff que se forma inicialmente, a partir del aminoácido y el PLP, hace que el hidrógeno en α del aminoácido original sea considerablemente más ácido y, por tanto, fácilmente eliminado para dar el intermedio enamínico. La enamina así formada, experimenta ahora un proceso tautomérico de protón, para dar, tras la hidrólisis del grupo imino, el α-cetoácido y el compuesto denominado fosfato de piridoxamina (PMP).

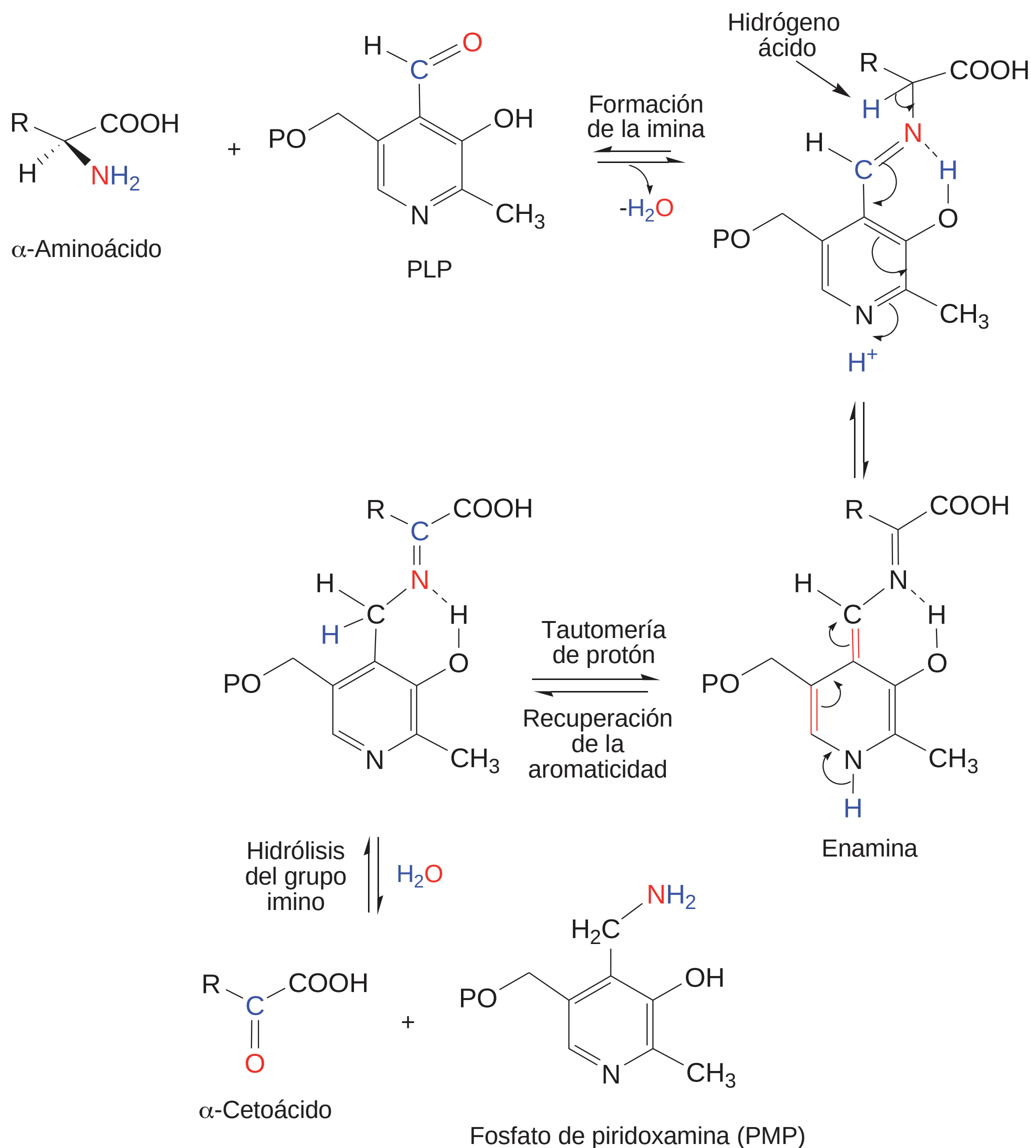


Figura 5.14. Mecanismo de acción del PLP en reacciones de transaminación

Como se observa en la Figura 5.14, el PLP no actúa de forma catalítica ya que finalmente se convierte en el fosfato de piridoxamina. Por tanto, debe haber otro agente oxidante paralelo que regenere el piridoxal por oxidación de la piridoxamina. Dicho oxidante suele ser otro α-cetoácido di-

ferente, muy a menudo el ácido 2-oxoglutárico, componente universal del metabolismo, ya que participa en el ciclo de Krebs. Es un proceso paralelo e inverso al de desaminación puesto que el ácido 2-oxoglutárico experimenta la aminación reductora dando un α-aminoácido, el ácido glutámico (Figura 5.15). De este modo, el nitrógeno va siendo transferido de unas moléculas a otras (transaminación) dentro del proceso general de gestión metabólica de dicho elemento.

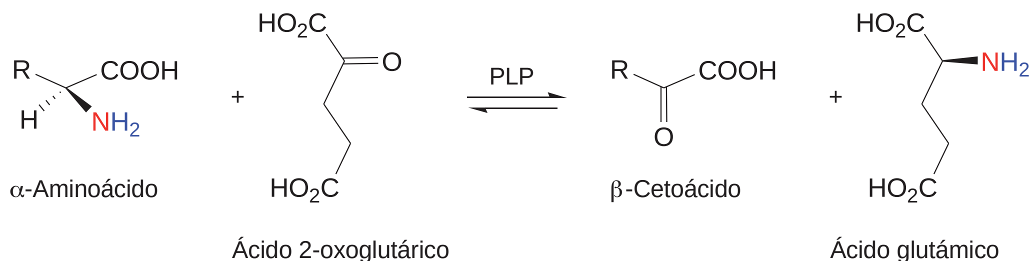


Figura 5.15. Proceso de transaminación mediante la coenzima PLP

5.3.3. Oxidación y reducción

La oxidación-reducción o química redox constituye uno de los tipos de reacciones más frecuentes y fundamentales en los procesos biológicos. Como ya se ha comentado en el Tema 3, las enzimas encargadas de llevarlos a cabo pueden recibir diversas denominaciones como deshidrogenasas, oxidasas, oxigenasas o reductasas. Dado que una enzima es un catalizador, debe actuar conjuntamente con un cofactor oxidante o reductor que se consuman estequiométricamente. Así, en el caso concreto de oxidación de un alcohol a un aldehído o cetona, la enzima que actúa es una deshidrogenasa y la coenzima, que es la que experimenta los cambios estructurales como consecuencia del proceso oxidante, es el NAD^+ (dinucleótido de nicotinamida y adenina) cuya misión es promover la transferencia formal de un ion hidruro. Como la estructura completa de esta coenzima se ha mostrado en el tema anterior (apartado 4.4.1), aquí se indicará de forma abreviada, dibujando únicamente la parte reactiva.

Como se observa en la Figura 5.16, la coenzima, tras el proceso de oxidación del alcohol, se ha convertido en la forma reducida NADH, la cual deberá ser reoxidada en un proceso aparte que implique la reducción de

otro sustrato. Recordemos que existe otro par redox, NADP⁺/NADPH (dinucleótido de fosfato de nicotinamida y adenina) cuya única diferencia estructural con el primero es que un hidroxilo está fosforilado.

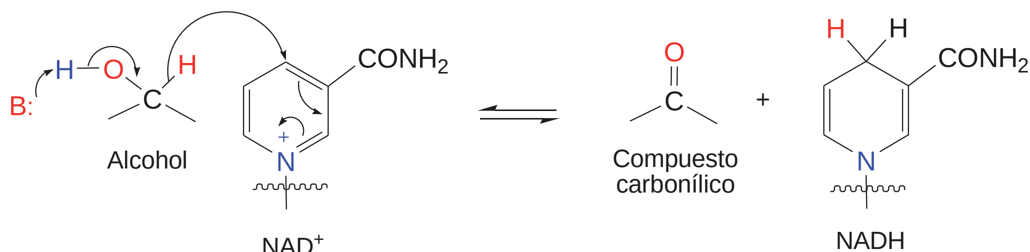


Figura 5.16. Mecanismo de oxidación de un alcohol por NAD⁺

Las reducciones biológicas son los procesos inversos a las oxidaciones. En estos casos, el NADH (NADPH) transfiere un ion hidruro al compuesto carbonílico en una reacción de adición nucleófila y posterior protonación del alcóxido intermedio (Figura 5.17). Esta reacción puede ser comparada con la que tiene lugar en el laboratorio cuando se utilizan hidruros metálicos como el $LiAlH_4$ o el $NaBH_4$.

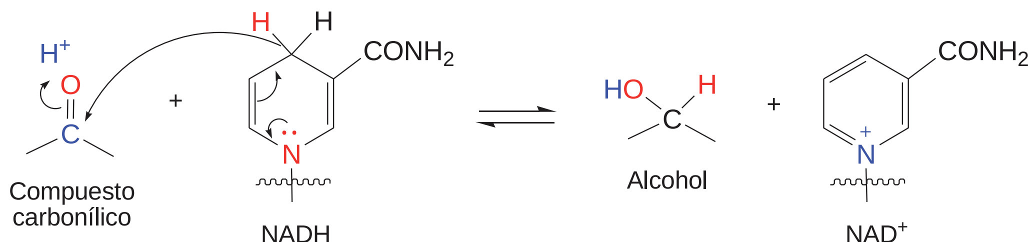


Figura 5.17. Mecanismo de reducción de un compuesto carbonílico por NADH

Como ya se ha comentado en el Tema 4 (apartado 4.4.2), otro de los tipos importantes de enzimas redox está basado en una coenzima cuya forma oxidante se denomina FAD (dinucleótido de flavina y adenina). Su estructura, representada esquemáticamente en la Figura 5.18, contiene un sistema heterocíclico de flavina, en vez del catión piridinio presente en la coenzima NAD⁺.

A diferencia de la pareja NAD⁺/NADH, con la coenzima FAD se produce la transferencia global de dos protones y dos electrones para dar la forma

reducida $FADH_2$. Sin embargo, mecanísticamente el proceso no está del todo claro y se proponen dos posibilidades, bien la transferencia de un hidruro del sustrato y de un protón del medio, o un mecanismo que implica la formación de intermedios radicalarios generados por transferencias monoelectrónicas sucesivas.

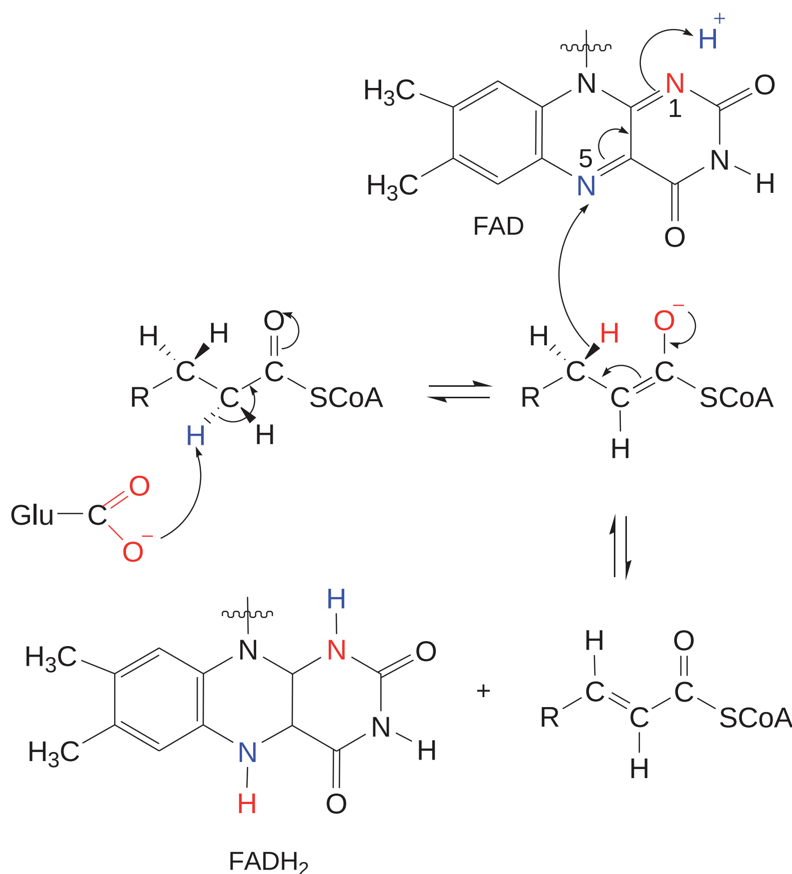


Figura 5.18. Mecanismo para la primera etapa de β-oxidación de ácidos grasos por la coenzima FAD

Veamos un ejemplo: la oxidación de un compuesto carbonílico con hidrógenos en α y β (necesarios para formar un doble enlace) para obtener un compuesto carbonílico α,β-insaturado, o el proceso inverso, de reducción de un enlace C=C conjugado con un grupo carbonilo, son reacciones de gran importancia pues constituyen pasos claves en el metabolismo

de ácidos grasos, tal y como se estudiará en el Tema 7. Así, por ejemplo, las enzimas denominadas *acilcoenzima A deshidrogenasas*, dependientes del par FAD/$FADH_2$, catalizan el primer paso del proceso denominado β-oxidación de los ácidos grasos, paso clave de la degradación catabólica de los mismos. En la Figura 5.18 se muestra, de los dos posibles mecanismos indicados anteriormente, el que implica la transferencia de hidruro. Como se observa, un residuo de glutamato de la enzima actúa como base abstrayendo el hidrógeno ácido del sustrato. El enolato formado induce la transferencia de hidruro al nitrógeno-5 del FAD, produciéndose en última instancia la protonación del nitrógeno-1 para dar el producto carbonílico α,β-insaturado.

El número de sustratos sobre los que actúan las enzimas dependientes del par FAD/FADH es mayor que el de la pareja NAD^+/NADH. Entre los tipos de productos que pueden ser oxidados por FAD además de los compuestos carbonílicos con hidrógenos en α y β que acabamos de comentar, también se encuentran sustancias tales como tioles, aminas, α-aminoácidos, α-hidroxiácidos, etc.

5.3.4. Hidroxilaciones vía complejos metálicos

Una enzima que utiliza oxígeno molecular como agente oxidante e incorpora solo uno de los dos átomos de oxígeno al producto se denomina monooxigenasa. Las monooxigenasas requieren, por tanto, la colaboración de una reductasa (NADPH, ácido ascórbico, etc.) que reduzca a agua el oxígeno no incorporado (Figura 5.19).

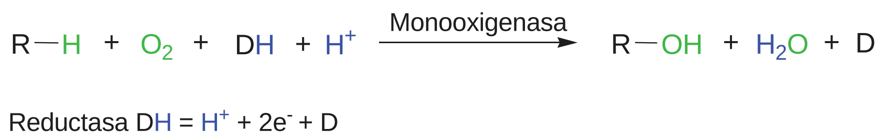


Figura 5.19. Ecuación general de hidroxilación de enlaces C-H

Además, muchas monooxigenasas utilizan un cofactor que contiene una agrupación hierro-oxo, el cual puede formarse por diferentes caminos. Por ejemplo, entre las monooxigenasas mejor estudiadas se encuentra la familia de citocromos del tipo P450 que contienen un cofactor de tipo ferroporfirínico ligado a un residuo de cisteína de la enzima y catalizan reacciones

tales como hidroxilaciones de enlaces C-H no activados o epoxidaciones de olefinas y arenos. Como se observa en la Figura 5.20 la función de este cofactor (representado de manera esquemática) es activar el oxígeno molecular, y durante el proceso el átomo de hierro llega a alcanzar estados de oxidación tan altos como +5. La enzima en su estado base (Fe^{3+}) experimenta varias transferencias de electrones desde la reductasa DH asociada a la enzima, así como de protones, hasta llegar al complejo hierro-oxo que es el que dará lugar a la inserción del átomo de oxígeno en el enlace C-H.

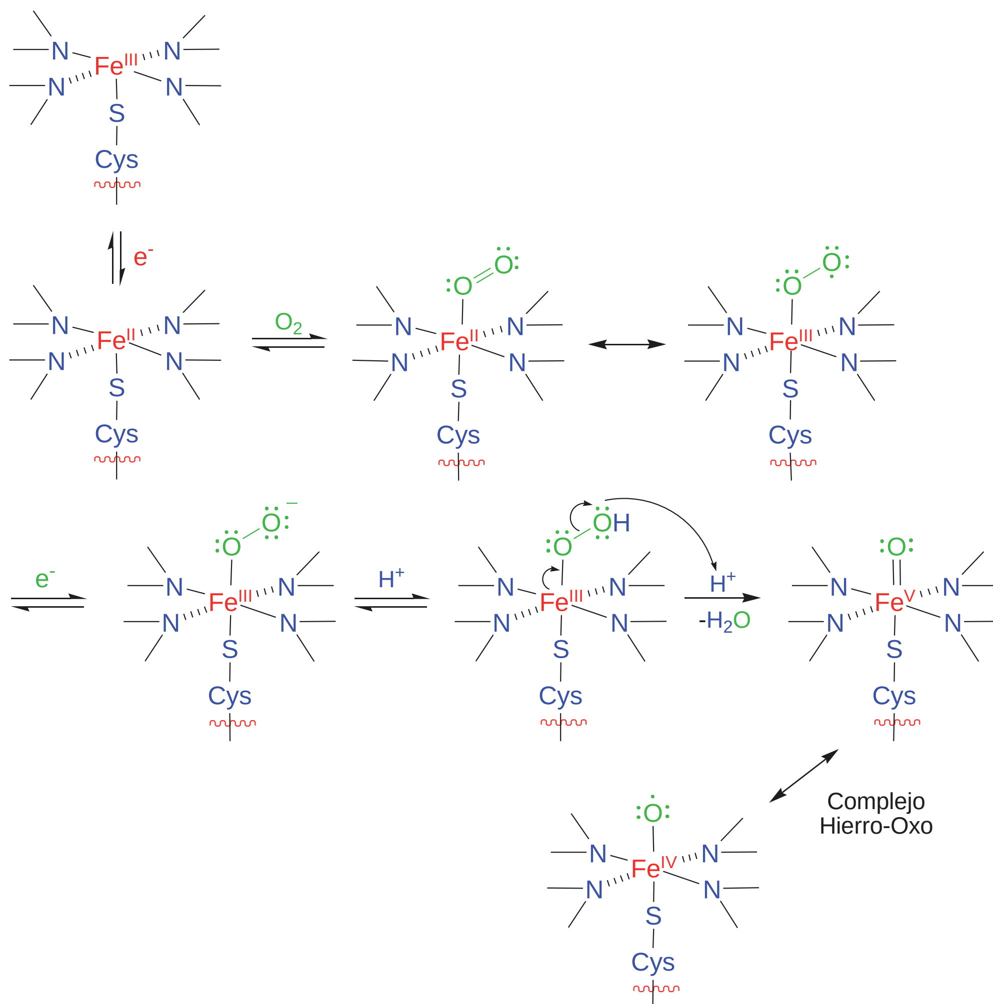


Figura 5.20. Mecanismo de activación del oxígeno molecular por acción de los citocromos P450

Aunque el mecanismo de inserción del átomo de oxígeno desde el complejo hierro-oxo al enlace C-H sigue siendo objeto de controversia, se piensa que el proceso ocurre a través de intermedios radicalarios de vida muy corta tal y como se muestra en la Figura 5.21.

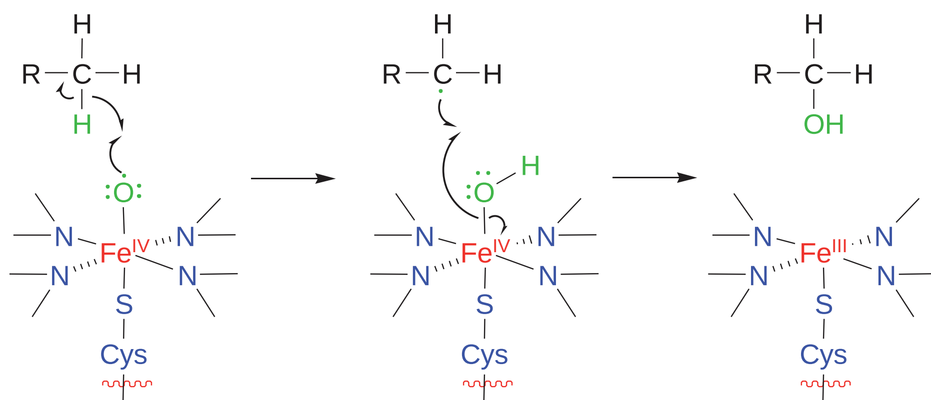


Figura 5.21. Mecanismo de hidroxilación de enlaces C-H

5.4. TRANSPOSICIONES

Los procesos de reordenación de esqueleto pueden ser de naturaleza mecanística muy variada pero *in vivo* se han observado casi exclusivamente en carbocationes y radicales libres. A continuación, se verá algún ejemplo de estas dos variantes.

Un gran número de estructuras encontradas en terpenos o esteroides solo pueden ser racionalizadas como originarias de unidades de isopreno, si durante el proceso de biosíntesis ha tenido lugar algún tipo de transposición de esqueleto tipo Wagner-Meerwein. Este tipo de transposición implica intermedios carbocatiónicos, por ejemplo, de reacciones S_N1 o E1, y suelen seguir las pautas mecanísticas usuales *in vitro*: migraciones 1,2 de hidrógeno o grupos alquilo para dar una nueva especie carbocatiónica más estable o transposiciones que conduzcan a anillos con menor tensión anular (Figura 5.22). En algunas ocasiones se observan reordenamientos que parecen contravenir estas reglas generales, pero hay que tener en cuenta que en la naturaleza las reacciones son catalizadas por enzimas y las especies que participan no son verdaderos carbocationes libres.

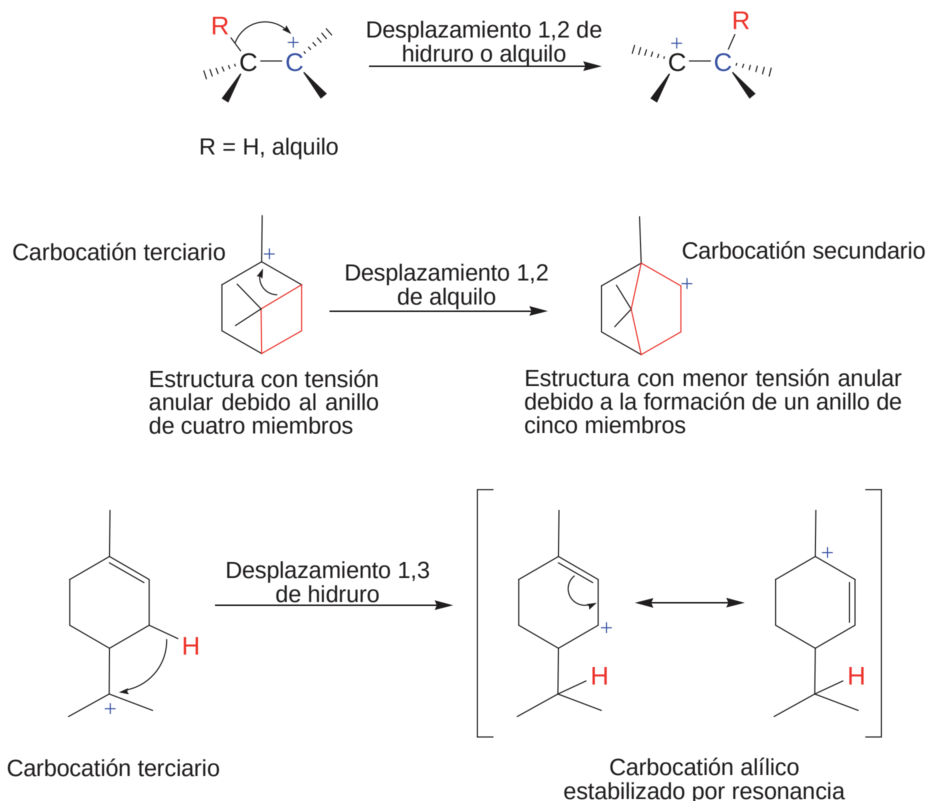


Figura 5.22. Ejemplos de transposición de Wagner-Meerwein

Respecto a las transposiciones de especies radicalarias hay que decir que en las últimas décadas se han descubierto diversos ejemplos en procesos *in vivo*. De especial interés biológico es la conversión de la (*R*)-metilmalonil-coenzima A en succinilcoenzima A (ver ejercicio de autocomprobación n.º 3). El proceso es catalizado por la enzima *metilmalonilcoenzima A mutasa*, dependiente del complejo de cobalto de tipo corrínico denominado coenzima B_{12}. Ya se ha comentado que este cofactor no es biosintetizable por el organismo humano y debe ser administrado en la dieta (vitamina B_{12}). En todos los procesos en los que participa la coenzima B_{12} se producen con facilidad rupturas homolíticas del enlace cobalto-carbono así como cambios en los estados de oxidación del cobalto. En la Figura 5.23 se muestra el mecanismo general (la coenzima se representa de manera esquemática; para ver su estructura completa se remite a la Figura 4.16 del Tema 4).

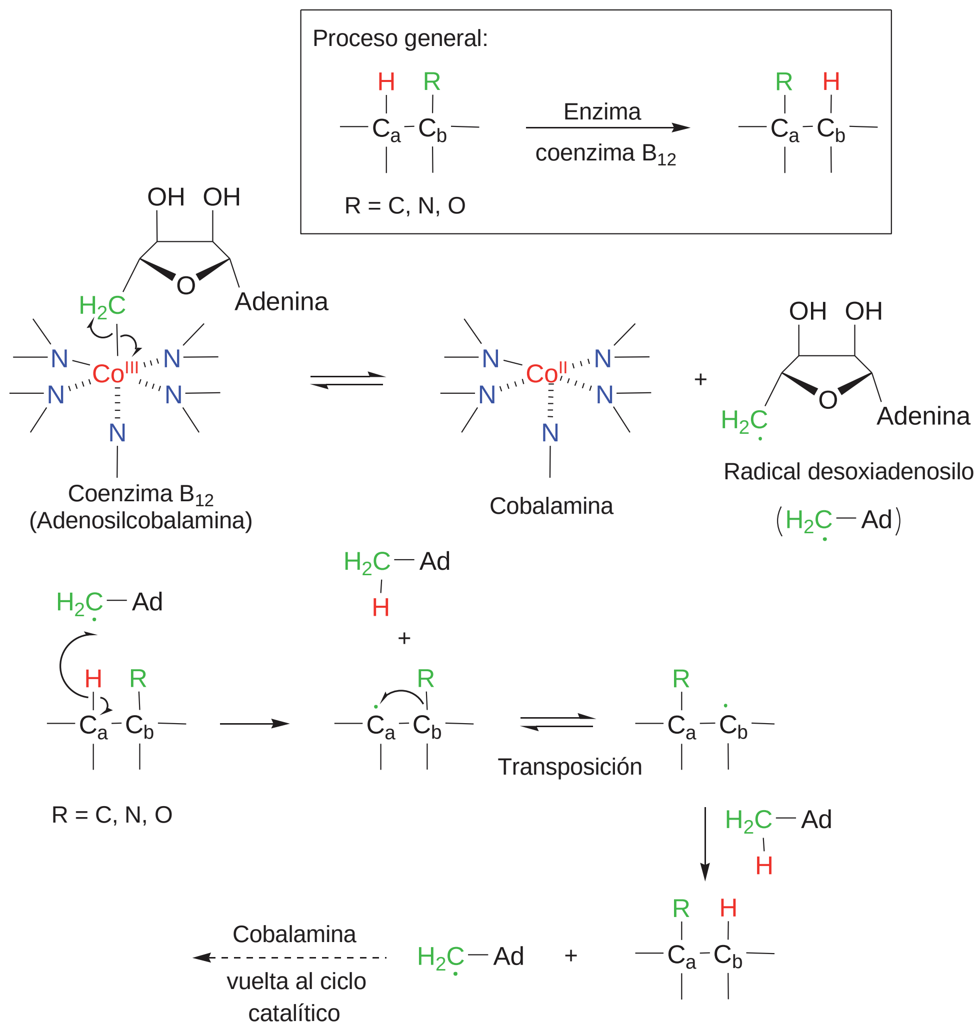


Figura 5.23. Mecanismo general de las enzimas de tipo mutasa dependientes de la coenzima B_{12}

Como se observa en la Figura 5.23, primero se produce la rotura homolítica del enlace cobalto-carbono de la coenzima B_{12} para dar el radical desoxiadenosilo que abstrae el átomo de hidrógeno del sustrato. A continuación, se produce la transposición del grupo R y la abstracción de nuevo de un átomo de hidrógeno, ahora de la desoxiadenosina, para dar el producto final de la transposición y el radical desoxiadenosilo, que se recombina con la cobalamina para completar el ciclo catalítico.

CONCEPTOS CLAVE

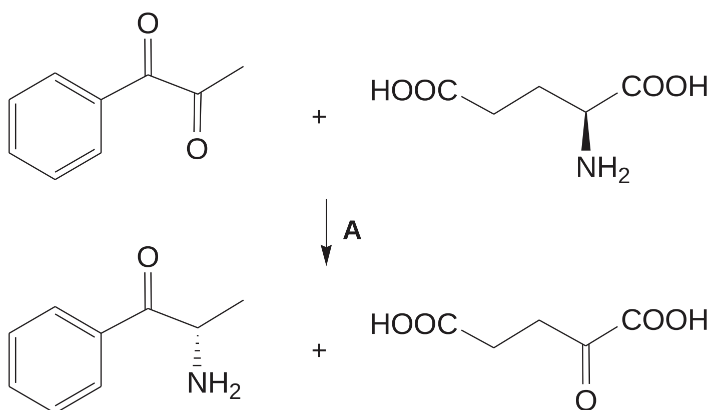
1. Las reacciones de *O*-, *N*- y *C*-metilación se llevan a cabo por el agente metilante *S*-adenosilmetionina (SAM) y transcurren por un mecanismo S_N2.
2. En la síntesis de terpenos y esteroides se dan reacciones de adición electrófila de carbocationes alílicos a dobles enlaces pudiendo ser adiciones inter- o intramoleculares.
3. Las reacciones de condesación aldólica y de Claisen son muy frecuentes en procesos biosintéticos que implican la formación de enlaces carbono-carbono. Son reacciones catalizadas por bases y al ser procesos fácilmente reversibles, pueden también darse en sentido contrario (reacciones retroaldólicas y retro-Claisen).
4. La carboxilación en α a grupos carbonilos suele llevarse a cabo por la *N*-carboxibiotina.
5. La descarboxilación de α-cetoácidos es una reacción dependiente de la coenzima pirofosfato de tiamina (TPP).
6. La capacidad de la coenzima fosfato de piridoxal (PLP) para llevar a cabo procesos de descarboxilación y transaminación se debe a la capacidad del anillo piridínico de actuar como sumidero temporal de carga electrónica.
7. La oxidación de alcoholes a aldehídos o cetonas transcurre vía transferencia de un ion hidruro desde el alcohol a la coenzima NAD^+ o $NADP^+$. Por el contrario, en la reducción de compuestos carbonílicos, es la forma reducida de la coenzima, NADH o NADPH, la que transfiere el ion hidruro al sustrato.
8. La oxidación de un compuesto carbonílico a un compuesto carbonílico α,β-insaturado es dependiente de la coenzima dinucleótido de flavina y adenina (FAD), produciéndose la transferencia global de dos protones y dos electrones para dar la forma reducida $FADH_2$.
9. Las monooxigenasas del citocromo P450 contienen un cofactor de tipo ferroporfirínico que cataliza la inserción de un átomo de oxígeno en enlaces C-H. El mecanismo más aceptado para describir el proceso transcurre a través de intermedios radicalarios.

10. Las transposiciones de esqueleto tipo Wagner-Meerwein implican intermedios carbocatiónicos y suponen migraciones de hidrógeno o grupos alquilo.

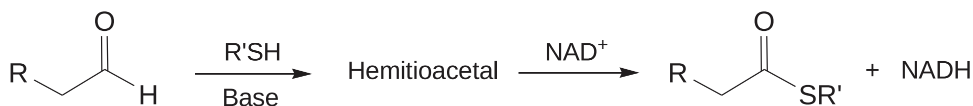
11. En las transposiciones o reordenaciones de esqueleto en las que interviene la coenzima B_{12}, el mecansimo más aceptado supone la participación de especies radicalarias $R^{\bullet}$ (R= C, N, O).

EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

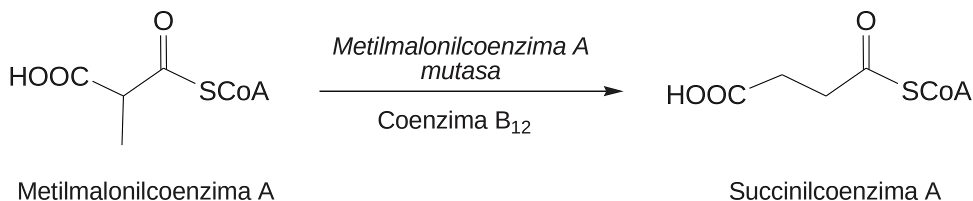
1. Proponer un mecanismo detallado para la siguiente transformación. ¿Cuál es el cofactor **A**?



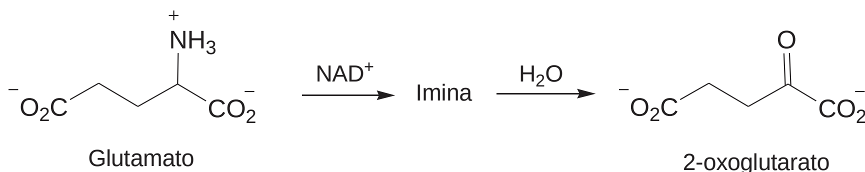
2. La conversión biológica de un aldehído en un tioéster ocurre en dos etapas: adición nucleófila de un tiol para dar un hemitioacetal y oxidación del hemitioacetal con NAD^+. Dibujar la estructura del intermedio hemitioacetálico y proponer un mecanismo para ambas etapas:



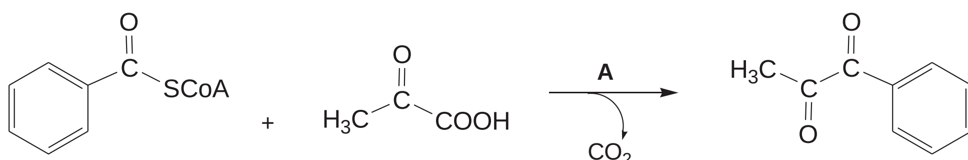
3. Sabiendo que la conversión de la metilmalonilcoenzima A en succinilcoenzima A es una reacción catalizada por un complejo de cobalto tipo corrínico y que conlleva una reacción de transposición, proponer un mecanismo para dicha conversión:



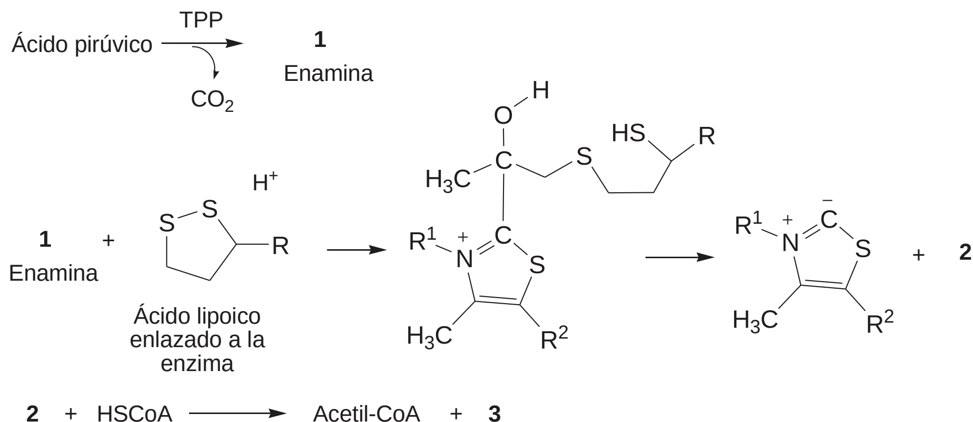
4. La desaminación de α-aminoácidos puede llevarse a cabo de manera oxidativa dando lugar a α-cetoácidos, que es lo mismo que decir que el grupo amino ha sido convertido en un grupo ceto. Esta transformación supone dos etapas: oxidación del grupo amino con NAD^+ para dar una imina e hidrólisis de la imina. Un ejemplo lo constituye la transformación de glutamato en 2-oxoglutarato. Proponer un mecanismo para la primera etapa.



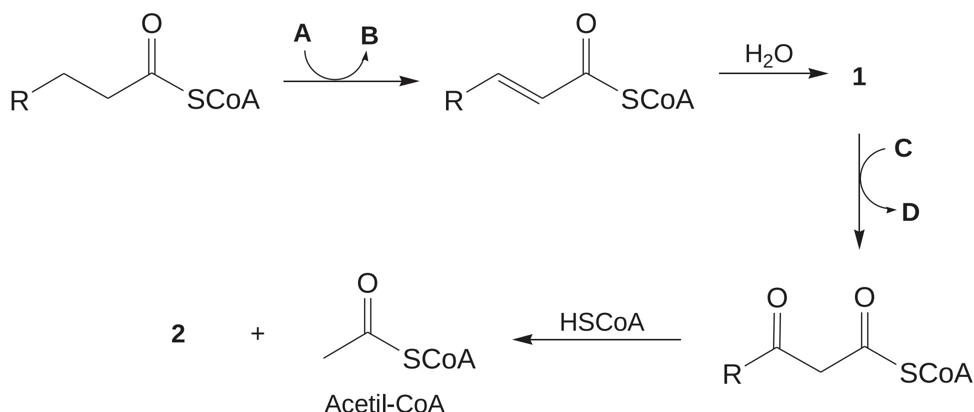
5. Proponer un mecanismo para la siguiente transformación. ¿Cuál es el cofactor **A**?



6. El ácido lipoico desempeña un papel importante en la degradación de la glucosa, concretamente en la conversión del ácido pirúvico en acetil-CoA, como parte del complejo enzimático *piruvato descarboxilasa* en el que también participa la coenzima TPP. Completar el esquema de reacciones que describe dicho proceso indicando con flechas los movimientos de electrones:

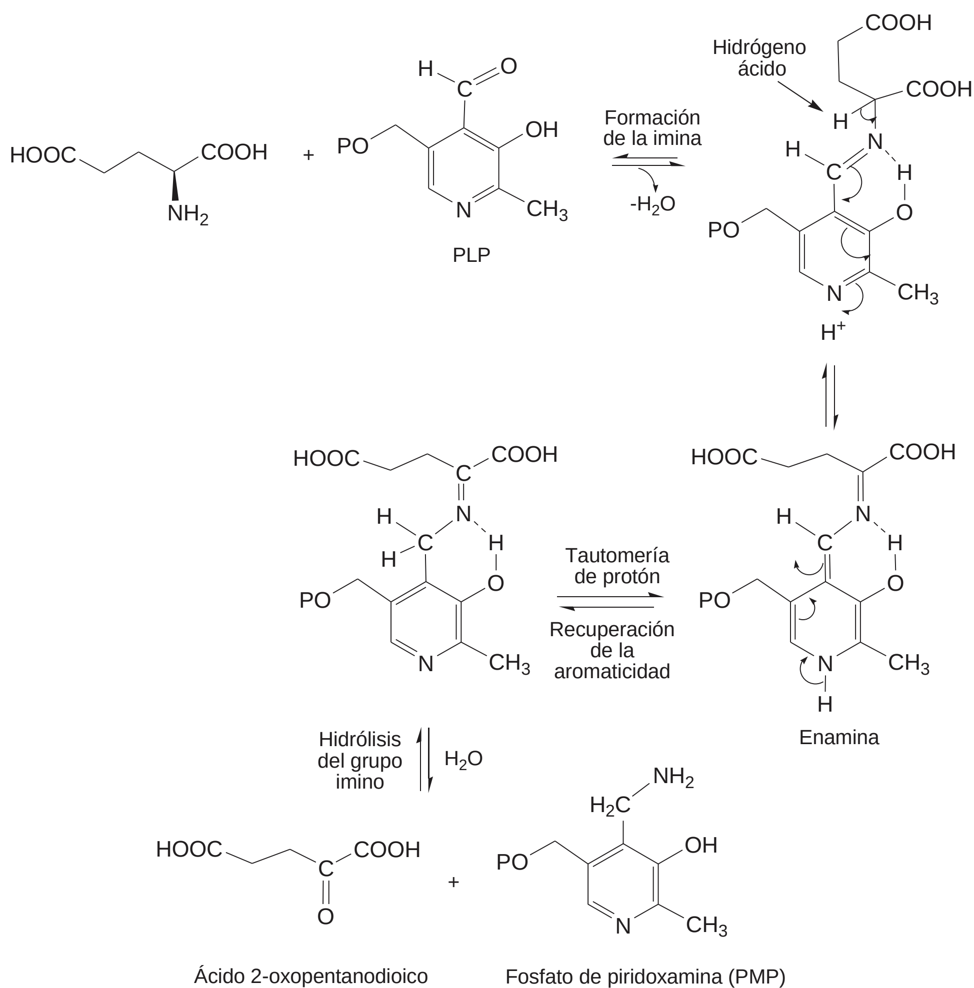


7. En la degradación catabólica de los ácidos grasos se produce de forma sucesiva una secuencia de 4 reacciones conocida con el nombre de β-oxidación que supone la eliminación de dos unidades de carbono del ácido graso en forma de acetil-CoA. Completar dicha secuencia ¿Qué tipo de reacción constituye la última etapa? **A**, **B**, **C** y **D** son las formas oxidadas o reducidas de las coenzimas implicadas.



SOLUCIONES A LOS EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

1. Se trata de una reacción de transaminación dependiente del fosfato de piridoxal (PLP), que será el cofactor **A**. El aminoácido reacciona con el PLP para dar el ácido 2-oxopentanodioico y fosfato de piridoxamina (PMP). A continuación, el PMP se oxida al reaccionar con el compuesto carbonílico, en una reacción inversa a la primera, para dar el nuevo aminoácido y recuperar el cofactor PLP.



1-Fenil-1,2-propanodiona

Fosfato de piridoxamina (PMP)

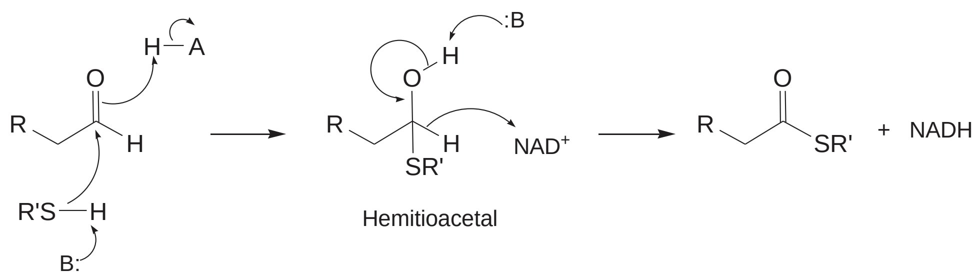
$-H_2O$

Tautomería de protón

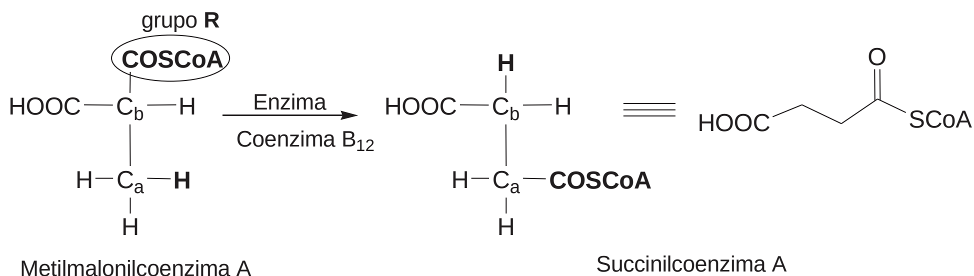
H_2O

PLP

2.



3. En primer lugar, y para una mayor comprensión de la transposición que ha tenido lugar, se dibujan ambas moléculas utilizando la terminología descrita para el proceso general mostrado en la figura 5.23.



El mecanismo detallado sería el siguiente:

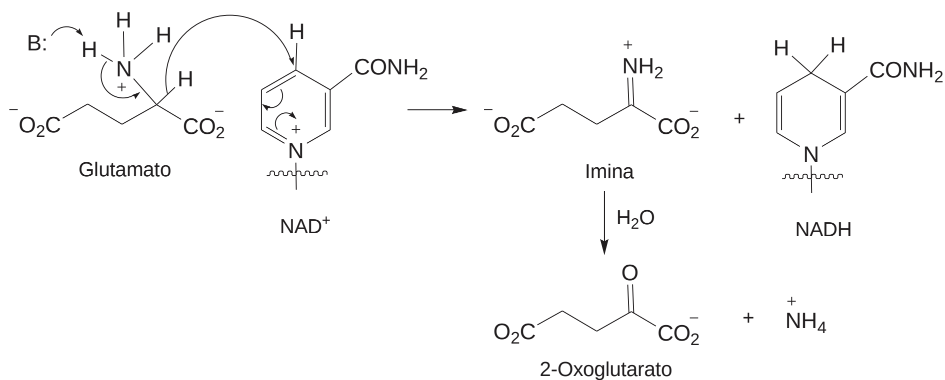
OH OH
Adenina
H_2C
Co^{III}
N
Co^{II}
+
Cobalamina
Radical desoxiadenosilo
($H_2\dot{C}$—Ad)

HOOC
SCoA
$H_2\dot{C}$—Ad
+
H_3C—Ad

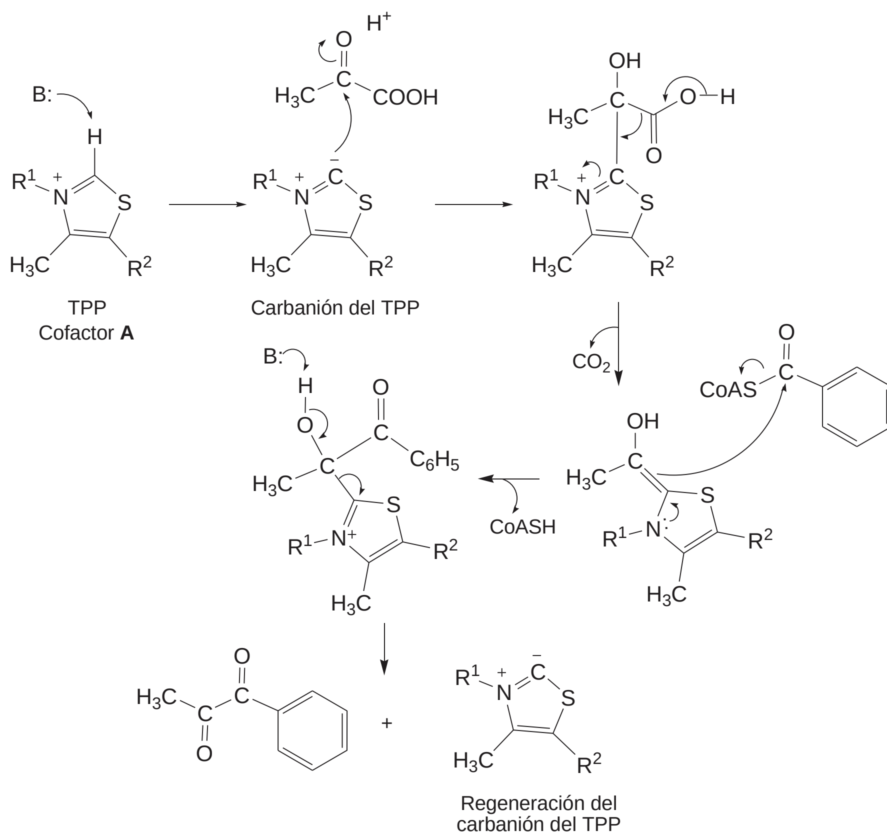
H_3C—Ad

Succinilcoenzima A

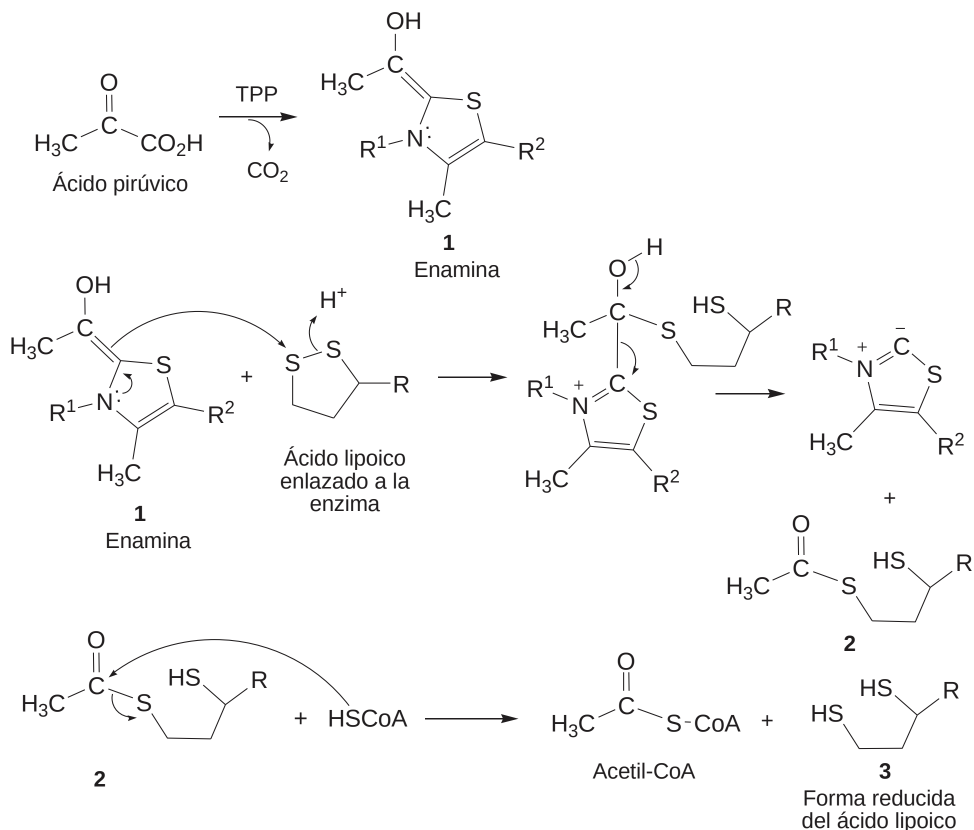
4.

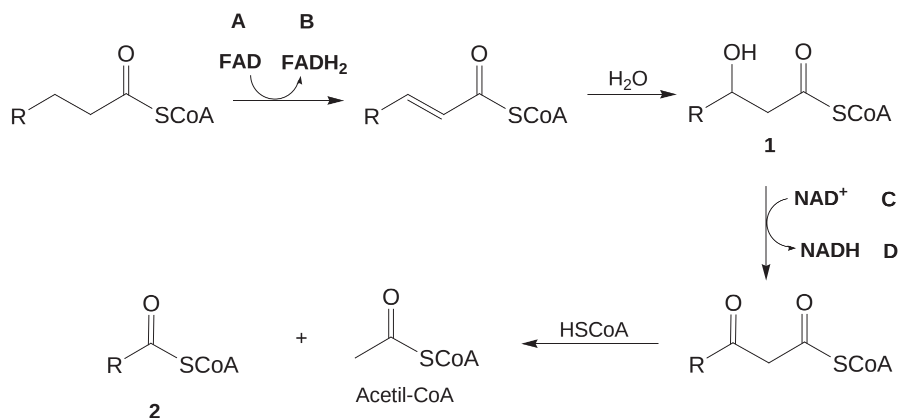


5. Se trata de una reacción de descarboxilación de un α-cetoácido que es dependiente de la coenzima pirofosfato de tiamina (TPP), y posterior condensación con el tioéster de la coenzima A.



6.





7.

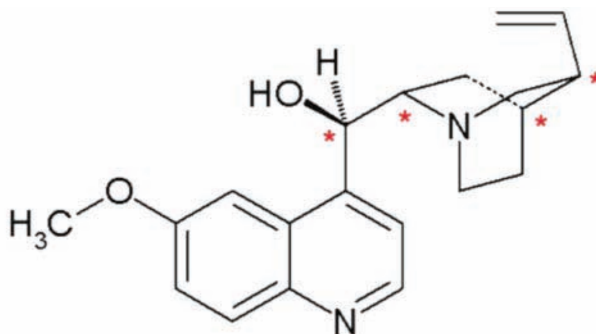
La última etapa es una reacción de retro-Claisen.

UNIDAD DIDÁCTICA II

TEMA 6

INTRODUCCIÓN A LA QUÍMICA DE LOS PRODUCTOS NATURALES

Rosa M.ª Claramunt Vallespí





Quinina, un producto natural que se encuentra en la *Cinchona*, con propiedades antipiréticas, antipalúdicas y analgésicas

SUMARIO

OBJETIVOS

General

Conocer qué se entiende por producto natural o metabolito secundario y el planteamiento general de las principales rutas biogenéticas.

Específicos

1. Conocer el origen de los productos naturales y algunas de sus aplicaciones.
2. Discriminar entre metabolismo primario y secundario y conocer su relación.
3. Identificar las estructuras de las unidades estructurales o moléculas *building block* del metabolismo secundario.
4. Diferenciar las diferentes rutas biogenéticas del metabolismo secundario.
5. Identificar los criterios de clasificación de los productos naturales.
6. Conocer algunas de las técnicas de elucidación de las rutas metabólicas.

6.1. DEFINICIÓN, ORIGEN Y APLICACIONES

El término *producto natural* se utiliza para designar a los compuestos de origen natural que se encuentran en un único organismo o en un número reducido de organismos muy relacionados entre sí. En la mayoría de los casos no son esenciales para la planta, insecto o microorganismo que los producen, a diferencia de lo que ocurre con otros compuestos orgánicos existentes en la naturaleza como azúcares, aminoácidos, nucleótidos y los polímeros derivados de ellos que son a la vez esenciales y omnipresentes.

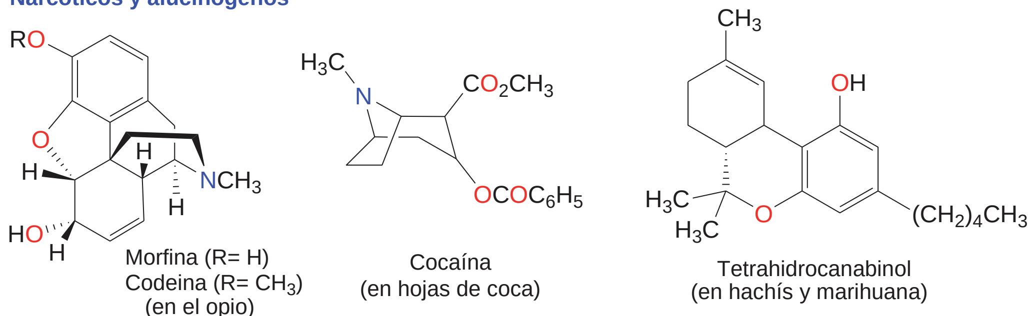
Dos ejemplos de productos naturales típicos nos ayudaran a comprender mejor esta definición. La morfina solo existe en dos especies de amapola, *Papaver somniferum* y *Papaver setigerum*, y aunque es ampliamente usada y abusada por la especie humana no tiene ninguna función en estas plantas. De modo similar, las penicilinas son únicamente producidas por unas pocas especies de hongos, tienen gran valor como antibióticos al servicio de la humanidad, pero no poseen ninguna función útil para el microorganismo que las produce.

Los productos naturales han sido muy utilizados desde la prehistoria para múltiples funciones como extractos de plantas y algunas recetas medievales se siguen utilizando en la actualidad. Su uso va desde medicinas para aliviar el dolor o los síntomas de diversas enfermedades, hasta venenos para la caza, agentes para la eutanasia y la aplicación de la pena capital, narcóticos, alucinógenos, estimulantes, perfumes y ambientadores, especias, etc. Algunos ejemplos representativos se indican en la Figura 6.1.

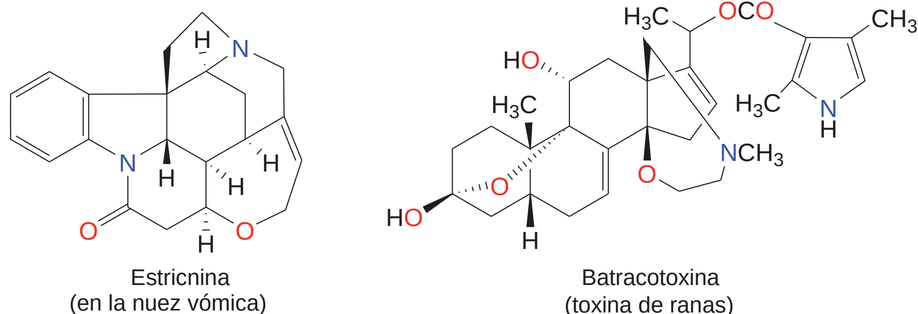
A la vista de lo expuesto, es fácil comprender la motivación de los esfuerzos realizados por los químicos del siglo XIX para aislar y caracterizar estos productos naturales. Entre 1815 y 1860 se aislaron más de veinte principios activos, incluyendo morfina, estricnina, quinina, cafeína, nicotina, codeína, alcanfor y cocaína. Sin embargo, los análisis no fueron posibles hasta 1835

e incluso entonces era raro aportar algo más que la fórmula molecular y describir las reacciones características de estos compuestos. Muchas de estas reacciones eran desconocidas y originaron nuevas teorías sobre estructura molecular y reactividad. Se intentó, además, la síntesis total de los principios activos no solo como confirmación final de las estructuras sino como desafío sintético debido a su enorme complejidad estructural. La dificultad de dicha tarea se pone de manifiesto en el tiempo transcurrido hasta lograr la síntesis total de algunos de ellos, así la morfina no fue sintetizada hasta 1952.

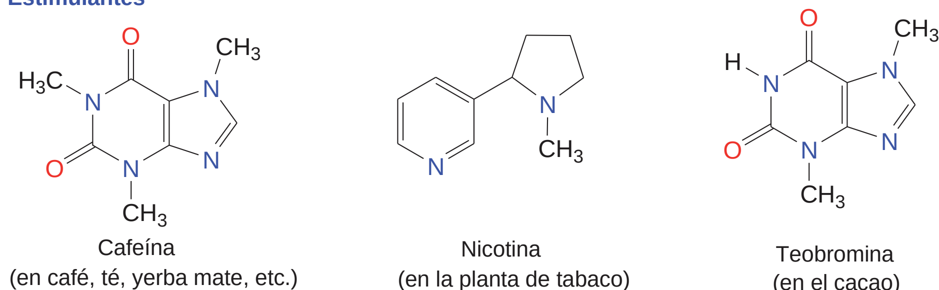
Narcóticos y alucinógenos



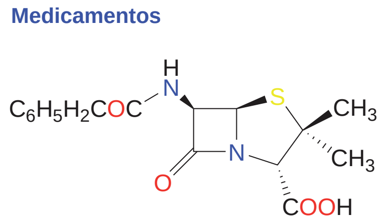
Venenos



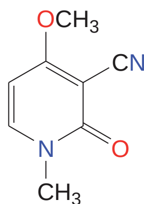
Estimulantes



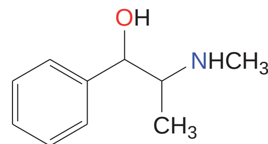
Medicamentos



Penicilina G
(en hongos *Penicillium*)

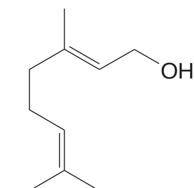


Ricinina
(en semillas de ricino)

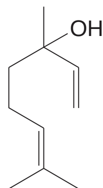


Efedrina
(en vegetales del género *Ephedra*)

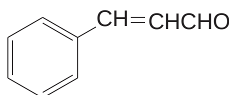
Perfumes y Especias



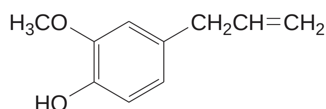
Geraniol
(aceite de rosas)



Linalol
(aceite de lavanda)



Cinamaldehído
(canela)



Eugenol
(clavo)

Figura 6.1. Ejemplos representativos de productos naturales

Cabe destacar, que durante este período de elucidación estructural y síntesis total, las nuevas reacciones que se descubrieron despertaron mucho interés y en algunos casos se generaron nuevos y revolucionarios conceptos. Por ejemplo, los estudios de Derek Barton sobre las reacciones de los esteroides —colesterol y derivados— le condujeron a proponer los principios del análisis conformacional y la reactividad de sistemas cíclicos en 1956.

De modo análogo, el examen de los productos de reacciones térmicas y fotoquímicas de la vitamina D y los estudios de la síntesis total de la vitamina B_{12} desempeñaron un papel importante en el proceso que culminó en la enunciación de las reglas de Woodward y Hoffmann sobre la conservación de la simetría orbital propuestas por Robert B. Woodward y Roald Hoffmann.

A medida que se avanzaba en el conocimiento de los productos naturales se intentó su clasificación de acuerdo con tipos estructurales y se planteó su origen biogenético. En algunos casos no fue difícil reconocer estructuras que sugerían un progenitor común, de este modo muchos alcaloides incorporan esqueletos de aminoácidos, mientras que los terpenos y los esteroides contienen un número determinado de unidades de cinco

carbonos, que al principio se creyó derivaban del isopreno o 2-metil-1,3-butadieno. Este acercamiento intuitivo dio lugar a la regla biogenética del isopreno, donde el progenitor biogenético debería ser el equivalente biológico del isopreno.

Así, a partir de meras especulaciones, se establecieron hipótesis que permitieron la realización de muchas síntesis totales, denominadas biomiméticas, de alcaloides que correspondían a procesos biosintéticos, mucho antes de que el camino biosintético hubiera sido realmente establecido. Además, los hipotéticos intermedios de la biosíntesis son a menudo verdaderos intermedios de la secuencia biomimética, o existen como trazas en la misma planta que contiene el producto natural que se está investigando, con lo que la probabilidad de que la hipótesis formulada sea próxima a la realidad es muy alta.

En los últimos años, con el desarrollo de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN), la espectrometría de masas (EM) o la cristalografía de rayos-X, la elucidación estructural se ha convertido en algo mucho más sencillo y se han podido comprobar las hipótesis biogenéticas.

El interés actual hacia los productos naturales se refiere a aspectos más biológicos como quimiotaxonomía, estudios enzimáticos y ecología química.

La *quimiotaxonomía* está relacionada con la descripción y clasificación de las plantas: si compuestos estructuralmente similares derivados de diferentes especies vegetales presentan un mismo origen biosintético, se puede asumir razonablemente que dichas especies pertenecen al mismo género o familia.

Existe además un gran número de bioquímicos interesados en los productos naturales al objeto de conocer, qué enzimas intervienen en los procesos biosintéticos, la naturaleza de las mismas o su activación e inhibición.

Otro de los campos de investigación en productos naturales, se refiere a la función que desempeñan algunos de ellos en los organismos en los cuales se originan, o a su papel como mediadores de las interacciones ecológicas, asegurando la supervivencia de determinados organismos en un entorno hostil.

No hay que olvidar que la razón primera para el estudio de los productos naturales fue su utilización en medicina y que en la actualidad continúa activamente la búsqueda de nuevas especies en las regiones más remotas y menos exploradas del planeta. Además, las empresas farmacéuticas realizan ensayos dirigidos al descubrimiento de nuevas propiedades farmacológicas en plantas que poseen ya actividades bien establecidas y utilizadas, por ejemplo, el uso clínico como agentes anticancerosos de las podofilinas (utilizadas contra las verrugas) o los alcaloides de la *Vinca* (para el tratamiento de la diabetes) (Figura 6.2).

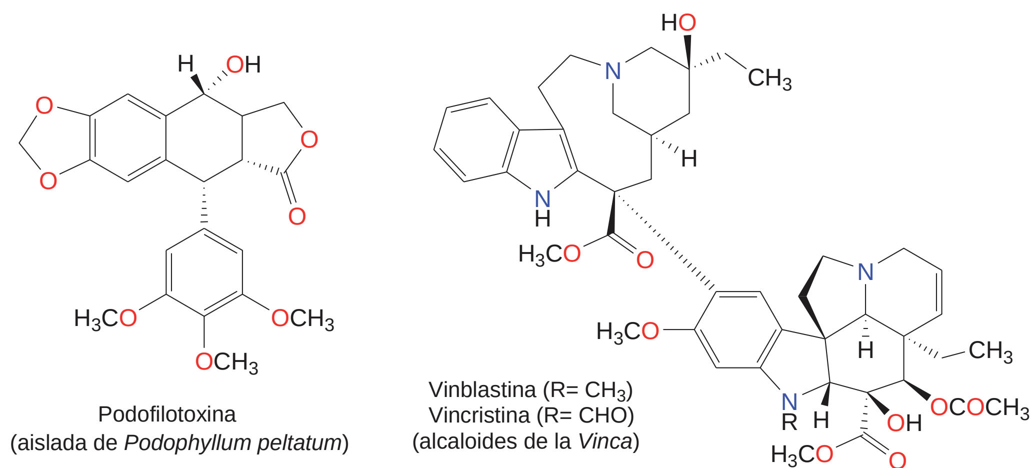


Figura 6.2. Podofilotoxina y alcaloides de la *Vinca*

6.2. METABOLITOS PRIMARIOS Y SECUNDARIOS

En los organismos vivos, los compuestos químicos se sintetizan y degradan por medio de una serie de reacciones químicas, interviniendo una enzima determinada en cada una de ellas. Estos procesos se conocen colectivamente como *metabolismo* y comprenden el *catabolismo* o degradación y el *anabolismo* o síntesis. Todos los organismos poseen caminos metabólicos similares por los que sintetizan y utilizan ciertas especies químicas esenciales: azúcares, aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos y sus polímeros: polisacáridos, proteínas, lípidos, ARN y ADN, etc.

Los compuestos que son esenciales para la supervivencia y el bienestar del organismo se llaman *metabolitos primarios*. Los metabolitos primarios

comunes a todas las células no se tratarán aquí, ya que se estudian con detalle en bioquímica.

La mayoría de los organismos utilizan también otros caminos metabólicos produciendo compuestos que usualmente no poseen ninguna utilidad aparente, son los denominados *productos naturales* o *metabolitos secundarios*, y sus caminos de síntesis y utilización constituyen el *metabolismo secundario*.

Los metabolitos secundarios, son una respuesta de la adaptación del organismo a la supervivencia y los procesos biosintéticos secundarios quizás solo se activan en etapas particulares del crecimiento y desarrollo, o durante periodos de estrés a causa de limitaciones nutricionales o ataques microbianos.

Los metabolitos secundarios no son únicamente productos de desecho del metabolismo, algunos son vitales para la supervivencia de las especies, siendo más importantes en organismos inferiores o en organismos que ocupan nichos ecológicos precarios.

La línea divisoria entre el metabolismo primario y secundario es borrosa, hay algunos aminoácidos que son metabolitos secundarios, mientras que muchos alcoholes esteroídicos o esteroles tienen un papel estructural esencial en la mayoría de los organismos y deben ser considerados metabolitos primarios. Además, los dos tipos de metabolismo están interconectados, puesto que el metabolismo primario origina moléculas pequeñas que se utilizan como productos de partida en los procesos metabólicos secundarios.

6.3. PRINCIPALES RUTAS BIOGENÉTICAS

En la Figura 6.3 se presentan los cuatro compuestos de partida fundamentales, denominados unidades estructurales o *building blocks* para el metabolismo secundario:

- ***Acetato*** en forma de ***acetilcoenzima A***, precursor de ácidos grasos, poliacetilenos, eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos), policétidos macrocíclicos y aromáticos.
- ***Mevalonato*** que da lugar a la familia de terpenos, como los esteroides y carotenoides.

- ***Acido shikímico*** o su ***anión shikimato***, el precursor de muchos compuestos aromáticos, incluyendo los aminoácidos aromáticos, los ácidos cinámicos y ciertos polifenoles.
- ***Aminoácidos*** que originan alcaloides y antibióticos peptídicos como las penicilinas y cefalosporinas.

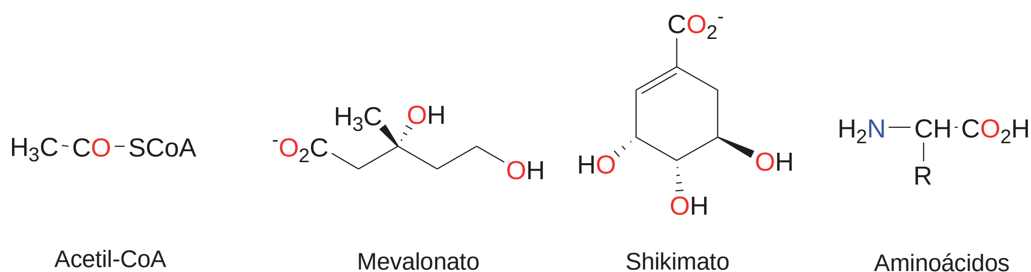


Figura 6.3. Unidades estructurales o *building blocks* de metabolitos secundarios

En cada ejemplo, el precursor de estos metabolitos secundarios se utiliza también para la biosíntesis de ciertas clases de metabolitos primarios, como proteínas, ácidos grasos, y nucleósidos. Las razones, sobre qué factores determinan el que actúen como precursores tanto de metabolitos primarios como secundarios, son muy diversas y es probable que las rutas del metabolismo secundario hayan surgido como medio para consumir acetato, mevalonato, shikimato y aminoácidos en exceso para los requerimientos del metabolismo primario.

Los organismos evolucionan gracias a cambios o mutaciones en su código genético, lo que va acompañado de cambios en las estructuras de las proteínas o en la actividad de las enzimas. A pesar de que las mutaciones pueden ocurrir por exposición del organismo a radiación ionizante, irradiación UV, ciertos productos químicos o virus, la mayoría de las veces se deben a errores químicos naturales en el complejo proceso en el que un gen es copiado y actúa como huella dactilar para la producción de proteínas o enzimas. Los cambios genéticos que alteran las rutas metabólicas primarias son normalmente nocivas y el organismo puede sucumbir, aunque la innovación en la evolución tiene lugar precisamente cuando se adoptan dichos cambios.

Por ejemplo, en algún estadio de la evolución varias especies de ranas de América del Sur empezaron a producir alcaloides tóxicos como la ba-

tracotoxina (ver Figura 6.1), lo que aumentó sus posibilidades de supervivencia al ser repugnantes al gusto para los depredadores.

El oso koala producía las enzimas digestivas necesarias para seguir una dieta rica en terpenos del eucalipto, como el 1,8-cineol (Figura 6.4), lo que le permitía vivir en lo alto de los arboles de eucalipto, evitando así a los depredadores del suelo.

Muchos de los cambios genéticos condujeron al aumento en la producción de acetato, shikimato y otros intermedios clave, así como a nuevas enzimas que catalizaron diferentes transformaciones de estos compuestos. Los productos de estas reacciones químicas son los metabolitos secundarios.

6.4. CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN

Las diferentes clasificaciones utilizadas para los productos naturales a lo largo del tiempo se discuten a continuación, destacando las ventajas de la que se basa en su origen biogenético o ruta biosintética y que es la que se emplea en este texto.

6.4.1. Estructura química

Se trata de una clasificación formal según el tipo de esqueleto molecular. De este modo surgen las siguientes clases:

- Compuestos alifáticos de cadena abierta como alcoholes, ácidos grasos, azúcares y un gran número de aminoácidos.
- Compuestos alicíclicos o cíclicos como terpenos, esteroides y algunos alcaloides.
- Compuestos aromáticos o bencenoides como fenoles, quinonas, etc.
- Compuestos heterocíclicos como alcaloides, flavonoides y bases nitrogenadas de ácidos nucleicos.

Sin embargo, se trata de una clasificación superficial que da lugar a que muchos productos estrechamente relacionados pertenezcan a más de una clase. Así, y tal como se muestra en la Figura 6.4, citronelol, farnesol y

escualeno pertenecen a la primera clase, 1,8-cineol a la segunda y timol a la tercera, pero debido a consideraciones biogenéticas son estudiados junto a otros terpenos como derivados del mevalonato.

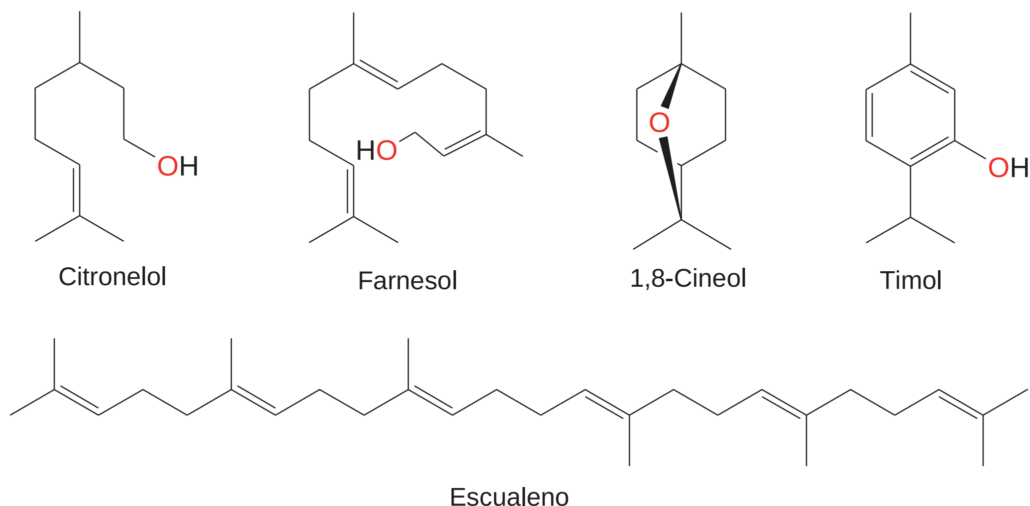


Figura 6.4. Fórmulas estructurales de algunos terpenos

6.4.2. Actividad farmacológica

El interés por aislar y conocer la estructura de los principios activos presentes en los productos naturales, responsables de su acción terapéutica o actividad farmacológica, data del origen de la humanidad.

En la actualidad, aproximadamente la mitad de medicamentos utilizados son de origen natural, por lo que a menudo los productos naturales se clasifican en función de la actividad farmacológica en hormonas, vitaminas, antibióticos, micotoxinas, etc.

Aunque los compuestos que pertenecen a cada grupo tienen diversas estructuras y orígenes biosintéticos diferentes, en ocasiones se encuentra una estrecha correlación entre dichos aspectos y la actividad.

Así, entre las variaciones estructurales encontradas en esteroides, los que exhiben actividad cardiotónica como las cardenolidas y bufadienolidas, se caracterizan en primer lugar por la unión *cis* entre los ciclos A y B

(posiciones 5,10) del ciclopentanoperhidrofenantreno, en segundo lugar, por la presencia de un resto de azúcar en C-3, y en tercero, por la existencia de una lactona conjugada de 5 o 6 miembros en C-17.

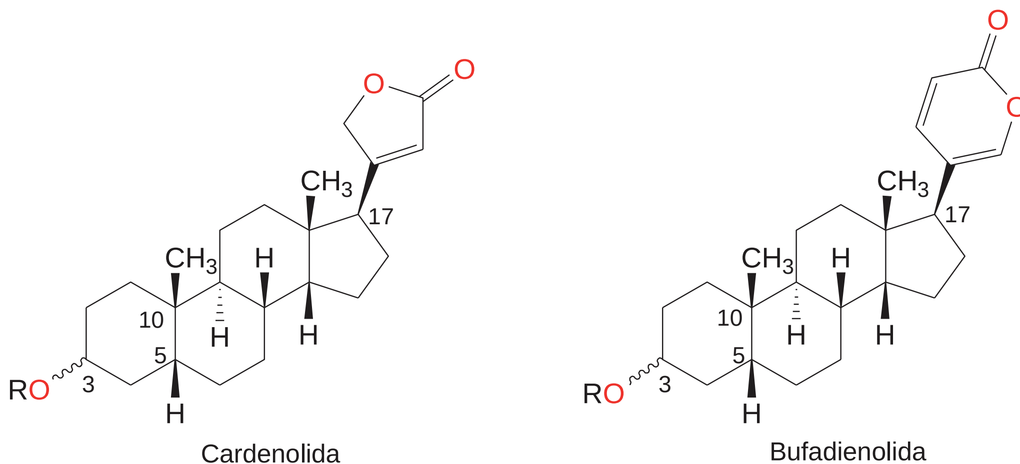


Figura 6.5. Esteroides con actividad cardiotónica

6.4.3. Taxonomía

Esta clasificación está basada en estudios morfológicos de las plantas, es decir en la taxonomía vegetal. En los animales y cierto número de microorganismos, los metabolitos finales son excretados fuera de los mismos, pero en las plantas los metabolitos se depositan en su interior.

Aunque se pensaba que determinados metabolitos eran específicos de algunas plantas, hoy se conoce que están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y de hecho muchos constituyentes de plantas, tales como alcaloides e isoprenoides, han sido aislados a partir de especies, géneros, o familias específicas de plantas. Por ejemplo, el opio de *Papaver somniferum* contiene varios alcaloides tales como morfina y codeína (Figura 6.1), tebaína, y narcotina (Figura 6.6), todos ellos biosintetizados a partir del precursor (*S*)-reticulina que contiene el sistema heterocíclico de 1-benciltetrahidroisoquinolina. De este modo los alcaloides que tienen estructuras similares son constituyentes característicos de este género de plantas y se designan como *alcaloides opiáceos*.

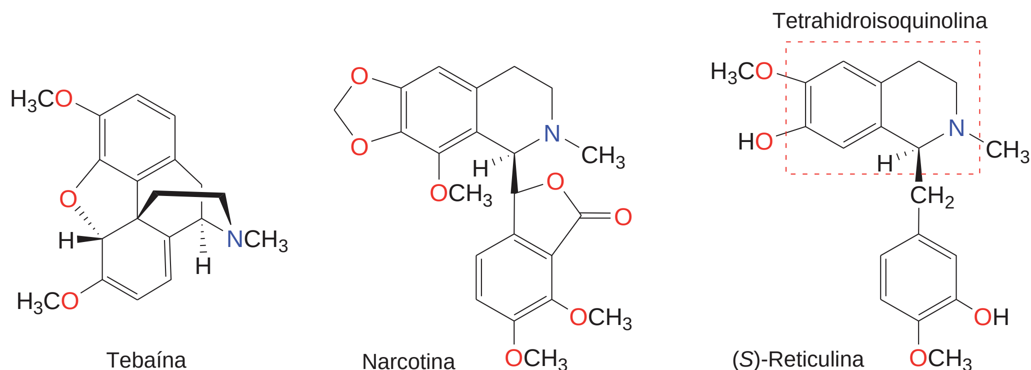


Figura 6.6. Alcaloides del *Papaver somniferum*

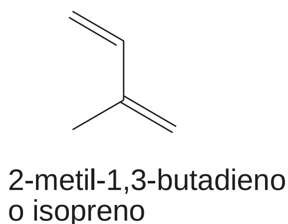
Existen otros muchos ejemplos, algunos de los cuales serán comentados en los temas siguientes. Sin embargo, el número de compuestos conocidos para cada planta es limitado y aún no se han estudiado todas las plantas. Es indudable que un conocimiento organizado de los constituyentes vegetales de acuerdo con la taxonomía, es de gran importancia tanto para el descubrimiento de nuevos productos como para la clasificación de las plantas.

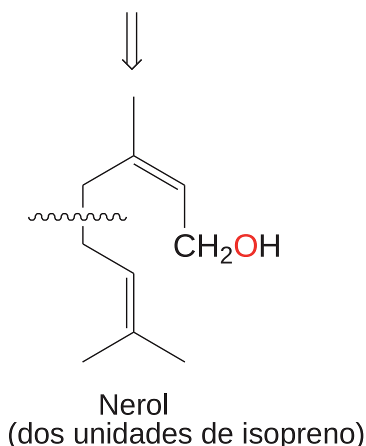
6.4.4. Biogénesis

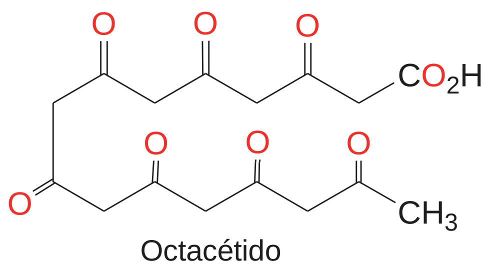
Aunque biogénesis y biosíntesis son términos que se usan indiscriminadamente, es habitual utilizar el primero para una hipótesis, y el segundo para una ruta sintética probada experimentalmente. Los constituyentes de todas las plantas y animales son biosintetizados en los organismos mediante reacciones enzimáticas. La fuente de carbono más frecuentemente utilizada es la glucosa, la cual es fotosintetizada en las plantas verdes u organismos autótrofos o bien es obtenida a partir del entorno en los organismos heterótrofos.

Los avances relativamente recientes en bioquímica han clarificado mucho la interrelación entre las reacciones enzimáticamente catalizadas de los metabolitos primarios, tales como azúcares, aminoácidos y ácidos grasos, y los biopolímeros, tales como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, que originan los metabolitos secundarios.

En la década de 1930 se empezaron a elaborar teorías de las rutas biogenéticas de los productos naturales en los organismos vivos en base a su regularidad estructural. Destacan en torno a 1960 dos ejemplos notables, la regla del isopreno propuesta por Leopold Ruzicka para los terpenos, ya mencionada, y la teoría policetometilénica de Robert Robinson para compuestos fenólicos, que constituyó la primera sugerencia de la biosíntesis de policétidos (Figura 6.7).







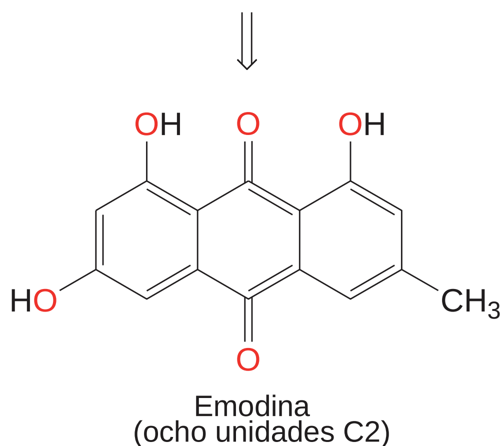


Figura 6.7. Terpenos y policétidos

Las vías de formación de los metabolitos secundarios se muestran de forma general en la Figura 6.8, a partir del hidrato de carbono más común, la D-glucosa y su estudio se desarrolla en los Temas 7 a 10, mencionando brevemente la ruta de la 1-desoxi-D-xilulosa-5-fosfato para la formación de terpenos, que se presenta solo en bacterias, algas verdes, cloroplastos de las plantas y parásitos *Plasmodium*.

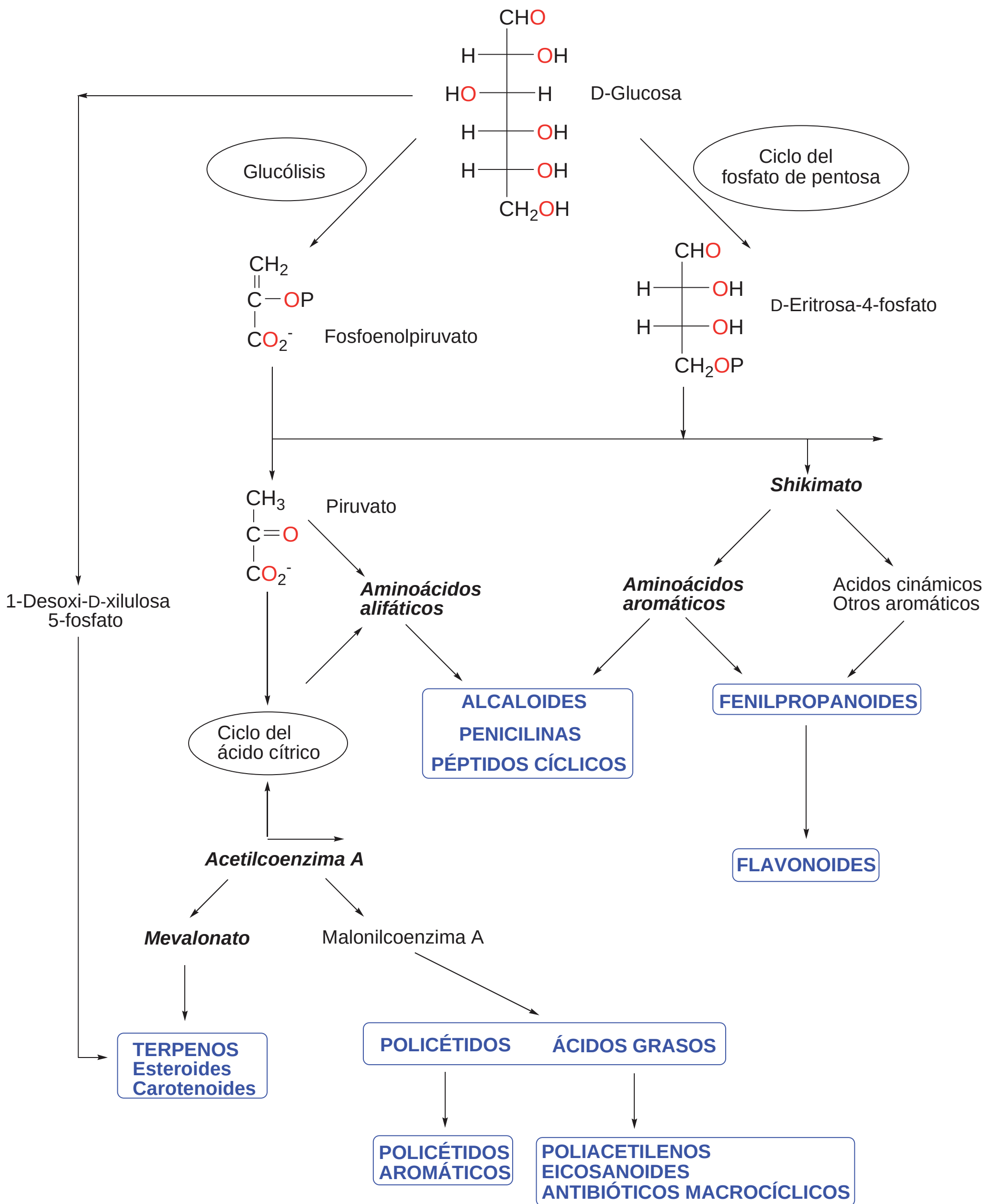


Figura 6.8. Biogénesis de los metabolitos secundarios

6.5 TÉCNICAS DE ELUCIDACIÓN DE RUTAS METABÓLICAS

Una vez realizada la elucidación estructural de un metabolito secundario es posible proponer una hipótesis biogenética para su formación a partir de las moléculas *building block* o unidades estructurales: acetato, mevalonato, shikimato o aminoácidos. Sin embargo, las rutas biosintéticas solo podrán ser confirmadas una vez identificados cada uno de los intermedios y enzimas.

Para ello, es necesario llevar a cabo experimentos en los cuales precursores isotópicamente marcados se administran a plantas o microorganismos para producir el metabolito secundario. Dicho metabolito es aislado, purificado y analizado en su contenido isotópico y si la incorporación del isótopo ha ocurrido en la forma prevista ello permitirá establecer relaciones precursor-metabolito. En ocasiones es posible además aislar e identificar intermedios que contengan al isótopo, que podrán a su vez ser utilizados en estudios posteriores de incorporación.

El precursor se administra a organismos vivos o a extractos de células, y en general la incorporación del isótopo marcado a las plantas es muy pobre, a menudo sólo un 10^{-2}-10^{-4} por cien del total administrado (se consiguen mejores incorporaciones del isótopo en cultivos de bacterias y hongos). Ello es debido a que el precursor no puede penetrar en el centro donde se realiza la biosíntesis, o es metabolizado por el camino.

Se suelen obtener mejores resultados utilizando células *callus* o cultivos de tejidos de dichas plantas que se han hecho crecer de modo que generen células no diferenciadas, que retienen su capacidad de producir metabolitos secundarios pero no otros compuestos. Una aplicación comercial de esta técnica consiste en producir líneas de células para la obtención de alcaloides útiles en medicina o terpenos para perfumería.

Una vez se dispone de una muestra pura del metabolito marcado o el intermedio biosintético, es preciso determinar la posición de los átomos enriquecidos. Inicialmente se utilizaron isótopos radiactivos como tritio (^{3}H) y carbono-14 (^{14}C), β-emisores de vida media 12,1 y 5.640 años, respectivamente. La información sobre los centros marcados se obtenía mediante la degradación química del metabolito marcado utilizando reacciones orgánicas, con el inconveniente de que en cada etapa de degradación se reducía la cantidad de metabolito disponible, haciendo prácticamente imposible obtener un mapa completo del marcaje de la molécula.

En la actualidad el empleo de isótopos no radiactivos como ^{13}C o ^{31}P, y en menor extensión ^{2}H, ^{15}N y ^{17}O ha revolucionado el estudio de los procesos biosintéticos, ya que al tener dichos isótopos espin I = ½ son detectables mediante la Resonancia Magnética Nuclear (RMN). Así, si se compara el espectro de ^{13}C en abundancia natural (1,1 %) de un metabolito con el que presenta después de un experimento de incorporación de un precursor enriquecido en ^{13}C, será posible determinar de acuerdo con las intensidades de las señales que corresponden a cada átomo, cuál o cuáles provienen del precursor marcado.

En el caso de precursores doblemente marcados, con ^{13}C y cualquier otro de los mencionados, se obtienen espectros de RMN en los que algunas de las señales presentan un efecto isotópico sobre el desplazamiento químico, lo que proporciona información adicional. Por ejemplo, si en el espectro de ^{13}C se observa un desplazamiento hacia campos altos de un carbono determinado es que hay átomos de deuterio unidos al mismo, ya sea directamente (efecto α) o a través de otro átomo de carbono (efecto β).

CONCEPTOS CLAVE

1. El conjunto de reacciones químicas que ocurren en los organismos vivos, con intervención de enzimas específicas, se conoce como metabolismo. Los procesos de síntesis constituyen el anabolismo y los de degradación el catabolismo.

2. Todos los organismos poseen caminos metabólicos similares por los que sintetizan y utilizan ciertas especies químicas esenciales o metabolitos primarios como azúcares, aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos y sus polímeros.

3. La mayoría de los organismos utilizan también otros caminos metabólicos produciendo compuestos que no son esenciales, son los denominados productos naturales o metabolitos secundarios, y sus caminos de síntesis y utilización constituyen el metabolismo secundario.

4. La línea divisoria entre el metabolismo primario y secundario es borrosa, hay algunos aminoácidos que son metabolitos secundarios, mientras que muchos alcoholes esteroídicos o esteroles tienen un papel estructural esencial en la mayoría de los organismos y deben ser considerados metabolitos primarios. Los dos tipos de metabolismo están interconectados, el metabolismo primario origina moléculas pequeñas que se utilizan como productos de partida en los procesos metabólicos secundarios.

5. Los cuatro compuestos de partida fundamentales, denominados unidades estructurales o *building blocks*, para el metabolismo secundario son acetato, mevalonato, ácido shikímico y aminoácidos.

6. El acetato en forma de acetilcoenzima A es precursor de ácidos grasos, poliacetilenos, eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos), policétidos macrocíclicos y aromáticos.

7. El mevalonato da lugar a los a la familia de los terpenos, como los esteroides y carotenoides.

8. El ácido shikímico, o su anión shikimato, es precursor de muchos compuestos aromáticos, como aminoácidos aromáticos, ácidos cinámicos y ciertos polifenoles.

9. Los aminoácidos originan alcaloides y antibióticos peptídicos.

10. Los productos naturales han sido clasificados de acuerdo con su estructura química, actividad farmacológica, taxonomía vegetal y biogénesis, siendo esta última la que se utiliza actualmente por su racionalidad.

11. Aunque biogénesis y biosíntesis son términos que se usan indiscriminadamente, es habitual utilizar el primero para una hipótesis, y el segundo para una ruta sintética demostrada experimentalmente.

12. La administración a plantas o microorganismos de precursores isotópicamente marcados para producir un metabolito secundario determinado permite, una vez éste ha sido aislado, purificado y analizado en su contenido isotópico, establecer relaciones precursor-metabolito.

PARA SABER MÁS…

Bath, S. V.; Nagasampagi, B. A.; Sivakumar, M.: *Natural Products: chemistry and applications*. Alpha Science Int., 2009.

Bhakuni, D. S.; Rawat, D. S.: *Bioactive Marine Natural Products*. Springer, 2005.

Dewick, P. M.: *Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach*. 3.ª ed. John Wiley & Sons., 2009.

Gil Ruiz, P.: *Productos Naturales*. Universidad Pública de Navarra, 2002.

Ikan, R.: *Selected topics in the Chemistry of Natural Products*. World Scientific, 2008.

Mann, J.: *Secondary Metabolism*. 2.ª ed. Oxford University Press, 1992.

Mann, J.; Davidson, R. S.; Hobbs, J. B.; Banthorpe, D. V.; Harborne, J. B.: *Natural Products: their chemistry and biological significance*. Longman, 1994.

Marcano, D.; Hasegawa, M.: *Fitoquímica Orgánica*. 2.ª ed. Universidad Central de Venezuela-Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico, 2002.

Marco, J. A.: *Química de los productos naturales*. Editorial Síntesis, 2006.

Rahman, A-U. (Editor): *Studies in Natural Products Chemistry* (varios volúmenes). Elsevier, 1990-2013.

Raviña Rubira, E.: *Medicamentos*. 2 vols. Servizo de Publicacións e Intercambio Científico, Universidad de Santiago de Compostela, 2008.

Thomson, R. H.: *The Chemistry of Natural Products*. 2.ª ed. Springer-Verlag, 1993.

Torssell, K. B. G.: *Natural Products Chemistry*. 2.ª ed. Swedish Pharmaceutical Press, 1997.

TEMA 7

LA VÍA DEL ACETATO.
ÁCIDOS GRASOS Y POLICÉTIDOS

Concepción López García



Alimentos ricos en ácidos grasos omega-3

SUMARIO

OBJETIVOS

General

Describir los policétidos como una gran clase de productos naturales de origen común y conocer las principales rutas biosintéticas que conducen a los compuestos pertenecientes a esta serie.

Específicos

1. Resaltar la importancia del acoplamiento de unidades de ácido acético, en su forma biológicamente activa, para la formación del poli-β-cetoéster.
2. Formular la ruta biosíntética de los ácidos grasos saturados.
3. Reconocer la importancia de los ácidos grasos en el metabolismo y plantear la distinta nomenclatura empleada para estos compuestos.
4. Diferenciar entre los dos tipos de rutas, aerobia y anaerobia, utilizadas en la biosíntesis de los ácidos grasos insaturados.
5. Reconocer los ácidos grasos acetilénicos y cómo se forman.
6. Describir las tres clases básicas de eicosanoides y sus caminos biosintéticos a partir del ácido araquidónico.
7. Explicar la formación de los policétidos aromáticos mediante reacciones de ciclación.

7.1. INTRODUCCIÓN

Los policétidos, también llamados acetogeninas, constituyen un grupo importante de productos naturales de origen biogenético común. Sus diversas estructuras derivan de cadenas de poli-β-cetoéster, formadas por acoplamiento de unidades de ácido acético (C_2 que no actúa como tal sino en su forma biológicamente activa, la acetilcoenzima A), vía reacciones de condensación.

La acetil-CoA conduce a dos series importantes de productos naturales (Figura 7.1), una de ellas es la que se verá en este tema y la otra serie se tratará en el tema 8.

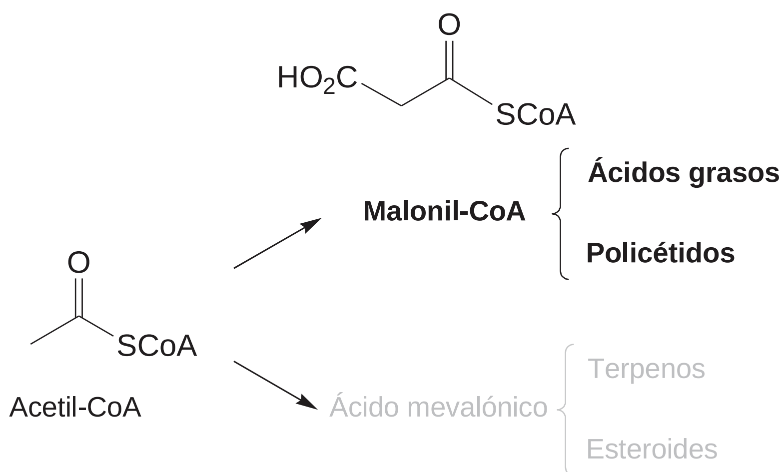


Figura 7.1. Productos naturales obtenidos a partir de la acetil-CoA

En esta serie de los policétidos se encuentran sustancias tan distintas como los ácidos grasos, saturados e insaturados; los eicosanoides: prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos y muchos compuestos que se obtie-

nen tras su ciclación, como los policétidos aromáticos y otros más complejos, algunos de los cuales se verán en este tema.

7.2. ÁCIDOS GRASOS SATURADOS

Los ácidos grasos naturales más abundantes son ácidos carboxílicos saturados lineales, de número par de átomos de carbono y tienen la fórmula general: CH_3-$(CH_2)_n$COOH. Muchos se conocen desde hace tiempo y es frecuente referirse a ellos por sus nombres comunes (Tabla 7.1).

Suelen encontrarse combinados con el glicerol formando triglicéridos, denominados grasas o aceites, en función de si son sólidos o líquidos a temperatura ambiente.

Los ácidos grasos saturados son líquidos y los de cadenas de más de 12 átomos de carbono son sólidos de aspecto céreo y bajo punto de fusión. Son compuestos hidrófobos, solubles en disolventes orgánicos poco polares (hexano, tolueno, éter, etc.).

Tabla 7.1. Ácidos grasos saturados más comunes

Ácidos grasos saturados		Se encuentra en:
Butírico C_4	**n = 2**	Leche de rumiantes, mantequilla.
Capróico* C_6	**n = 4**	Grasas y aceites animales. Leche de rumiantes. Es parte del sudor de las cabras.
Caprílico* C_8	**n = 6**	Leche de los mamíferos. Aceite de: palma, coco.
Cáprico* C_{10}	**n = 8**	Leche de algunos mamíferos. Aceite de: palma, coco.
Láurico C_{12}	**n = 10**	Semillas de diferentes tipos de palmeras. Leche de algunos mamíferos.
Mirístico C_{14}	**n = 12**	Nuez moscada, aceite de palma. Aceite de grasa de ballena y pescado.
Palmítico C_{16}	**n = 14**	Carnes, grasas lácteas (mantequilla, queso, nata) y en algunos aceites vegetales.
Esteárico C_{18}	**n = 16**	Abundante en las grasas animales.
Araquídico C_{20}	**n = 18**	Aceite de cacahuete.

* Para evitar confusiones entre estos ácidos, se recomienda utilizar la nomenclatura sistemática (hexanoico, octanoico y decanoico).

Los ácidos grasos se clasifican como metabolitos primarios debido a su ubicuidad y a los papeles vitales que desempeñan y solo se consideran metabolitos secundarios los menos comunes.

El consumo de alimentos con un alto contenido en ácidos grasos saturados es perjudicial para la salud (obesidad, ateroesclerosis, enfermedades cardiovasculares, etc.) por lo que se recomienda la ingestión de las grasas vegetales en lugar de las grasas animales, debido a su mayor contenido en ácidos grasos insaturados.

7.2.1. Biosíntesis

La biosíntesis se conoce desde hace tiempo ya que estos compuestos atrajeron pronto la atención de la comunidad científica debido a su estrecha relación con la salud, comentada anteriormente. Es un proceso muy estudiado y está catalizado por la enzima *sintasa del ácido graso*, que es una proteína multifuncional que contiene todos los sitios catalíticos requeridos (ver Tema 3).

La ruta biosintética se muestra en la Figura 7.2. La acetil-CoA y la malonil-CoA se convierten primero en tioésteres unidos a la enzima; la malonil-CoA mediante la proteína transportadora de acilo (ACP, por sus siglas en inglés), luego ocurre una reacción de Claisen y el acetoacetil-ACP obtenido se reduce de forma estereoespecífica al correspondiente β-hidroxiéster consumiendo NADPH en la reacción. El éster α,β-insaturado (de configuración *E*, *trans*) se obtiene mediante una reacción de eliminación, E2. La posterior reducción del doble enlace utiliza de nuevo NADPH y conduce a un compuesto que tiene dos carbonos más que el producto de partida. El compuesto formado puede volver de nuevo al sistema y mediante sucesivas etapas de reducción del grupo carbonilo, deshidratación y reducción del doble enlace se consigue aumentar la longitud de la cadena en dos carbonos durante cada ciclo. El tamaño de la cadena está controlado por la especificidad de las enzimas que intervengan.

De este modo, la combinación de una unidad iniciadora de acetato con siete malonatos conducirá al ácido palmítico, C_{16}, y con ocho malonatos al ácido esteárico, C_{18}. Los dos carbonos de la cabeza de la cadena son suministrados por el acetato y el resto provienen del malonato. La combinación de unidades de C2 mostrada en la Figura 7.2 explica por qué los ácidos gra-

sos comunes son de cadena lineal y poseen un número par de átomos de carbono.

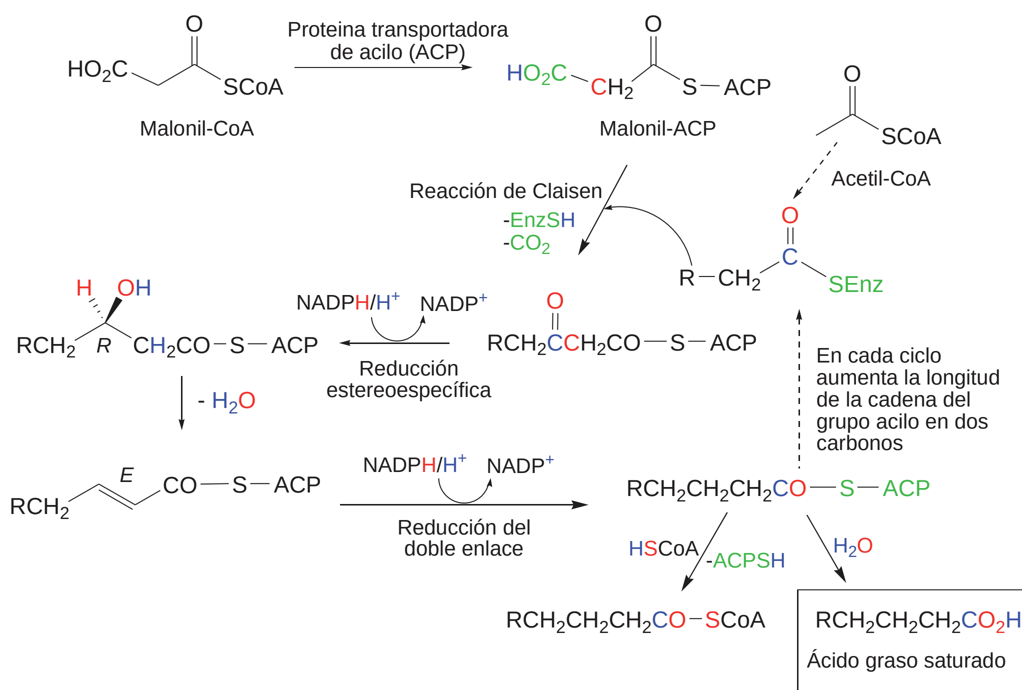


Figura 7.2. Biosíntesis de ácidos grasos saturados

Los ácidos grasos de cadena mayor de veinte átomos de carbono son raros pero algunos se encuentran en las ceras naturales como, por ejemplo, el ácido cerótico, C_{26}. También hay ácidos grasos saturados con número impar de carbonos, pero en menor abundancia relativa. Estos ácidos se originan normalmente mediante la incorporación de una unidad iniciadora diferente, por ejemplo, ácido propiónico o por pérdida de un átomo de carbono de un ácido graso de número par.

7.3. ÁCIDOS GRASOS INSATURADOS

La mayoría de los ácidos grasos insaturados pertenecen a la serie C_{18}, siendo raros los más cortos de C_{14} o más largos de C_{22}. En la Tabla 7.2 se indican algunos ejemplos representativos; en todos, los dobles enlaces son

cis o *Z* y son poco frecuentes los ácidos grasos con dobles enlaces *trans* o *E*. En estos compuestos, los dobles enlaces están separados entre sí, por dos o más enlaces sencillos, por lo que son no conjugados. Un cierto número de ellos contiene uno o varios enlaces múltiples carbono-carbono y en algún caso están presentes grupos hidroxilo, carbonilo o epóxido.

La introducción de enlaces C=C en la cadena suele ir asociado con un descenso en el punto de fusión por lo que muchos ácidos insaturados, incluso los de 18 carbonos, son líquidos (aceites) a temperatura ambiente. Por el contrario, la presencia de triples enlaces o de grupos funcionales suele dar lugar a un aumento del punto de fusión.

Tabla 7.2. Ejemplos representativos de ácidos grasos insaturados

Ácidos grasos insaturados	Fórmula	Se encuentra en:
Palmitoleico C_{16}	(Z)-$CH_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_7COOH$	Prácticamente en todas las grasas, especialmente en las de origen marino.
Oleico C_{18}	(Z)-$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$	Constituye el 83% del total de ácidos grasos presentes en el aceite de oliva y 60% del aceite de cacahuete. Muy extendido en la naturaleza.
Linoleico C_{18}	(9Z,12Z)-$CH_3(CH_2)_4CH=CH-CH_2-CH=CH(CH_2)_7COOH$	Representa el 21% de ácidos grasos en el aceite de cacahuete. Aceites vegetales (girasol, maíz, soja).
α-Linolénico C_{18}	(9Z,12Z,15Z)-$CH_3CH_2CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH\ (CH_2)_7COOH$	Aceite de soja. Otros aceites vegetales.
Ricinoleico C_{18}	(9Z)-$CH_3(CH_2)_5CHOHCH_2-CH=CH-(CH_2)_7COOH$	Representa el 88% del total de ácidos grasos presentes en el aceite de ricino.
Araquidónico C_{20}	(5Z,8Z,11Z,14Z)-$CH_3(CH_2)_4(CH=CH-CH_2)_4-(CH_2)_7COOH$	Glándulas adrenales de los mamíferos. Aceites de pescado.

Es frecuente encontrar distinta nomenclatura al referirse a estos compuestos (Figura 7.3). La nomenclatura semi-sistemática, utiliza abreviaturas que tienen en cuenta la longitud de la cadena, el número de dobles

enlaces, su posición y su estereoquímica. Según las reglas de la IUPAC, la cadena de los ácidos grasos se numera a partir del carbono carboxílico que es entonces el número 1 y la posición de los dobles enlaces se indica utilizando la letra griega Δ.

En otras áreas diferentes a la química, se numera la cadena a partir del metilo; en este caso, la posición de los dobles enlaces se indica con la letra griega ω, o con la letra n. La razón es que en los seres vivos el alargamiento, insaturación y corte de los ácidos grasos se produce a partir del extremo carboxílico, por lo que numerando desde el metilo se mantiene la relación entre los que pertenecen a la misma serie metabólica. Además, como en los ácidos grasos frecuentes, y especialmente en las series metabólicas correspondientes a los ácidos linoleico y linolénico, los dobles enlaces están situados siempre con un CH_2 entre ellos, solamente se especifica la posición del primero (contando desde el metilo).

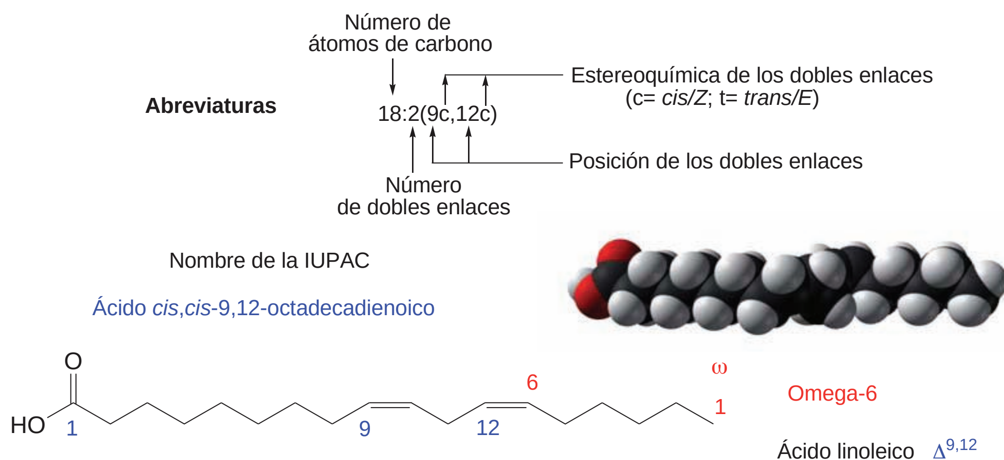


Figura 7.3. Distintos nombres para el ácido linoleico

La química de estos compuestos es la que cabe esperar para sistemas mono- o poli-olefínicos no conjugados y las reacciones de mayor importancia comercial son las autooxidaciones.

Aunque, las estructuras de estos compuestos se establecieron inicialmente mediante métodos de degradación oxidativa clásicos (Figura 7.4), para obtener otros fragmentos más pequeños de estructura conocida, actualmente se utilizan métodos espectroscópicos de elucidación estructural

(UV, EM, RMN, IR) para determinar de manera inequívoca su estructura, con tan solo unos miligramos de muestra.

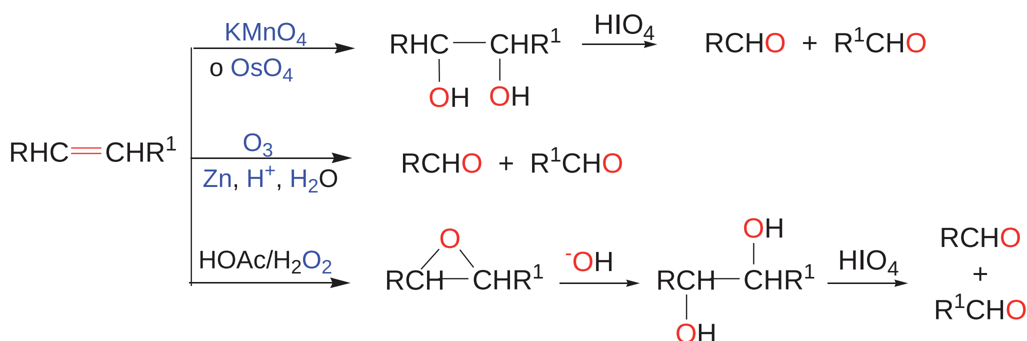


Figura 7.4. Métodos clásicos de degradación oxidativa

7.3.1. Biosíntesis

Los ácidos grasos insaturados se originan por dos tipos de vías diferentes.

La *ruta aerobia* es la más común, y tiene lugar en levaduras, algunas bacterias, algas, plantas superiores y en los vertebrados. El proceso consiste en una desaturación directa de la cadena preformada y se necesita el O_2 del aire, además de la participación de enzimas de tipo deshidrogenasas (*desaturasas*), NADPH y ATP (Figura 7.5).

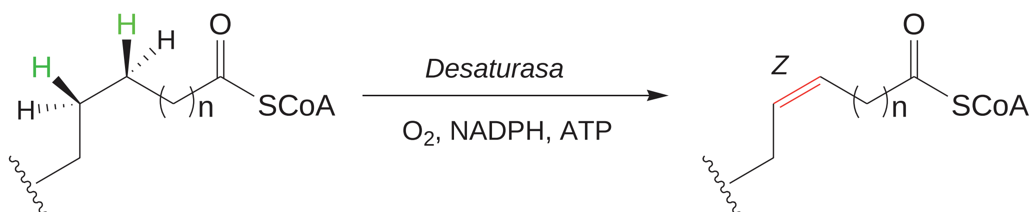


Figura 7.5. Biosíntesis de ácidos grasos insaturados en organismos aerobios

Los dos átomos de hidrógeno se eliminan de manera consecutiva a través de intermedios radicalarios. El proceso es estereoespecífico: se eliminan dos hidrógenos contiguos de forma *sin*, con lo que se forma un doble enlace de configuración *Z* que es la que se observa con más frecuencia en

ácidos insaturados naturales. Las desaturasas de organismos animales son capaces de introducir dobles enlaces en las posiciones Δ^4, Δ^5, Δ^8, Δ^9 y solo los insectos y los organismos vegetales pueden introducir instauraciones más allá de las posiciones indicadas.

La *ruta anaerobia,* tienen lugar en organismos anaerobios y también en algunos aerobios, transcurre sin la participación del oxígeno y es una derivación de la vía general de la biosíntesis de los ácidos grasos saturados mostrada anteriormente (ver Figura 7.2). En un momento determinado cuando la cadena hidrocarbonada ha alcanzado la longitud adecuada, generalmente 8 o 10 carbonos, la enzima, en este caso una deshidratasa, conduce al ácido graso insaturado a través de los intermedios indicados en la Figura 7.6. El doble enlace no experimenta la reducción por la coenzima NADPH y permanece inalterado en las sucesivas etapas de alargamiento de la cadena.

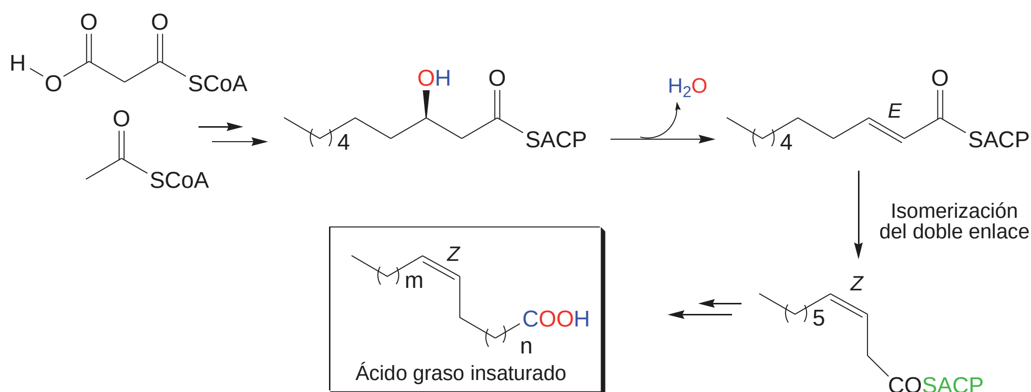


Figura 7.6. Biosíntesis de ácidos grasos insaturados en organismos anaerobios

En los organismos aerobios es frecuente encontrar ácidos grasos con muchos dobles enlaces, siendo el ácido oleico el precursor biogénetico de la mayoría de ellos. Los mamíferos no pueden insertar un *cis*-alqueno en la cadena más allá de la posición nueve del grupo carbonilo y así el ser humano no puede sintetizar los ácidos linoleico y linolénico directamente, por lo que deben estar presentes en nuestra dieta ya que son necesarios para la síntesis del ácido araquidónico (Figura 7.7), que como se verá en el apartado 7.5 es el precursor de otros compuestos importantes.

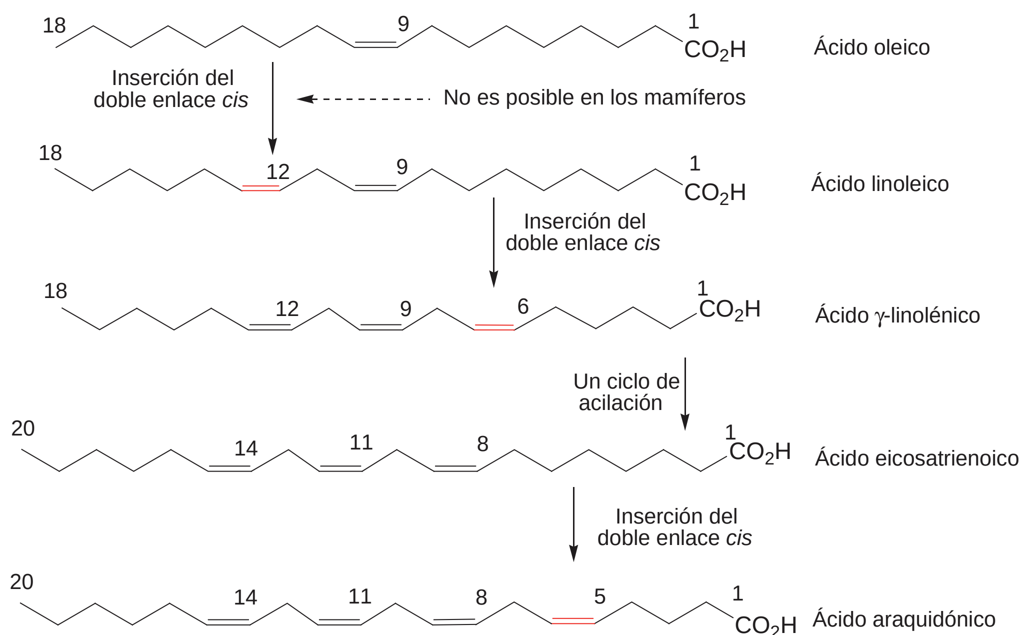


Figura 7.7. Biosíntesis del ácido araquidónico

7.4. ÁCIDOS GRASOS ACETILÉNICOS

Muchos compuestos insaturados que se encuentran en la naturaleza contienen uno o más triples enlaces, se conocen como ácidos grasos acetilénicos o poliacetilenos y, aunque eran prácticamente desconocidos antes de 1950, están sorprendentemente muy distribuidos y presentes en muchos organismos, pero son especialmente comunes en las plantas superiores, fundamentalmente *compuestas* (margaritas), *umbelíferas* (perejil y zanahoria) y en los hongos del grupo *basidiomicetos*. Recientemente también se han encontrado en algunos organismos marinos.

En la Figura 7.8 se muestran algunos ejemplos característicos. El ácido tarírico, descubierto en 1892 posee actividad pesticida; el ácido crepénico y el éster deshidromatricaria son abundantes en las semillas de margaritas; el falcarinol, presente en algunas plantas y que causa dermatitis por contacto en los seres humanos; el condriol un compuesto antiviral aislado de un alga marina; o la wierona que tiene propiedades antifúngicas y se pro-

duce cuando el organismo (en este caso la planta de las judías) es invadido por un agente patógeno. Muchos de estos compuestos son tóxicos pero no son peligrosos para el consumidor debido a que en las plantas se encuentran en muy pequeñas cantidades. Los poliacetilenos también se han encontrado en las nubes moleculares interestelares en donde el hidrógeno es escaso.

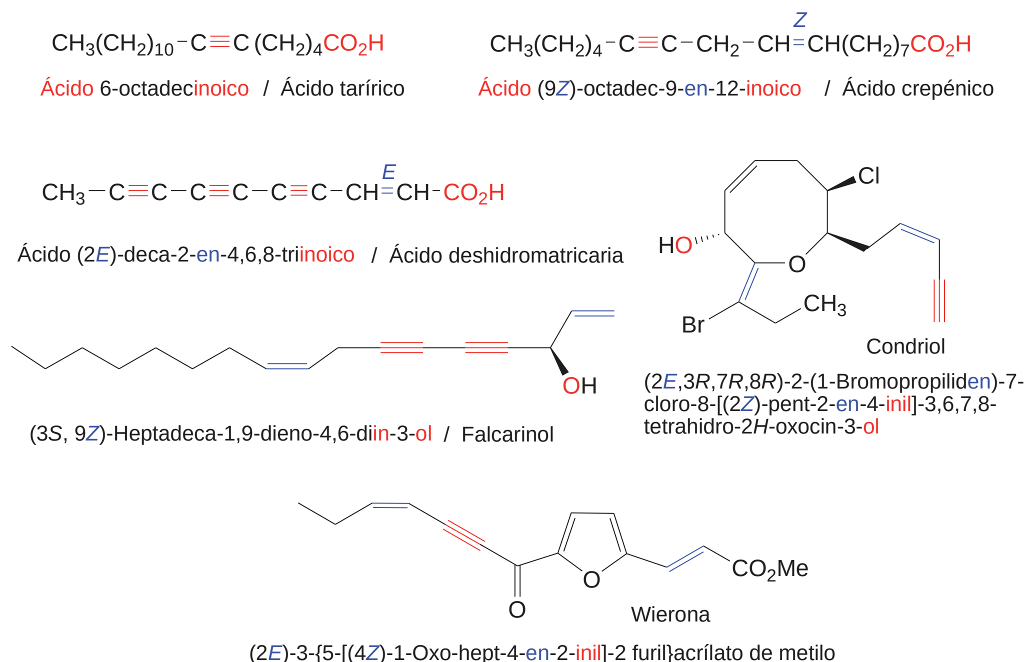


Figura 7.8. Ejemplos de ácidos grasos acetilénicos (nombre IUPAC y nombre común)

Estos compuestos son altamente inestables y si se acumulan en cantidad suficiente pueden ser explosivos. Hay evidencias de que muchos de los poliacetilenos naturales actúan como *fitoalexinas*, es decir, compuestos químicos producidos o presentes en las plantas como respuesta defensiva a las agresiones de microrganismos.

Los ácidos grasos acetilénicos tienden a poseer insaturaciones conjugadas, por lo que poseen espectros de absorción UV intensos y característicos que facilitan su detección y aislamiento. Debido a la rigidez que presentan algunos de estos compuestos, son muy interesantes para su uso en nanotecnología.

7.4.1. Biosíntesis

Muchos acetilenos retienen el doble enlace *Z* del ácido oleico y la unidad terminal de octanoato, por lo que se sugirió que el ácido oleico era modificado por introducción de insaturaciones a la izquierda del doble enlace central y por degradación oxidativa de la unidad de octanoato.

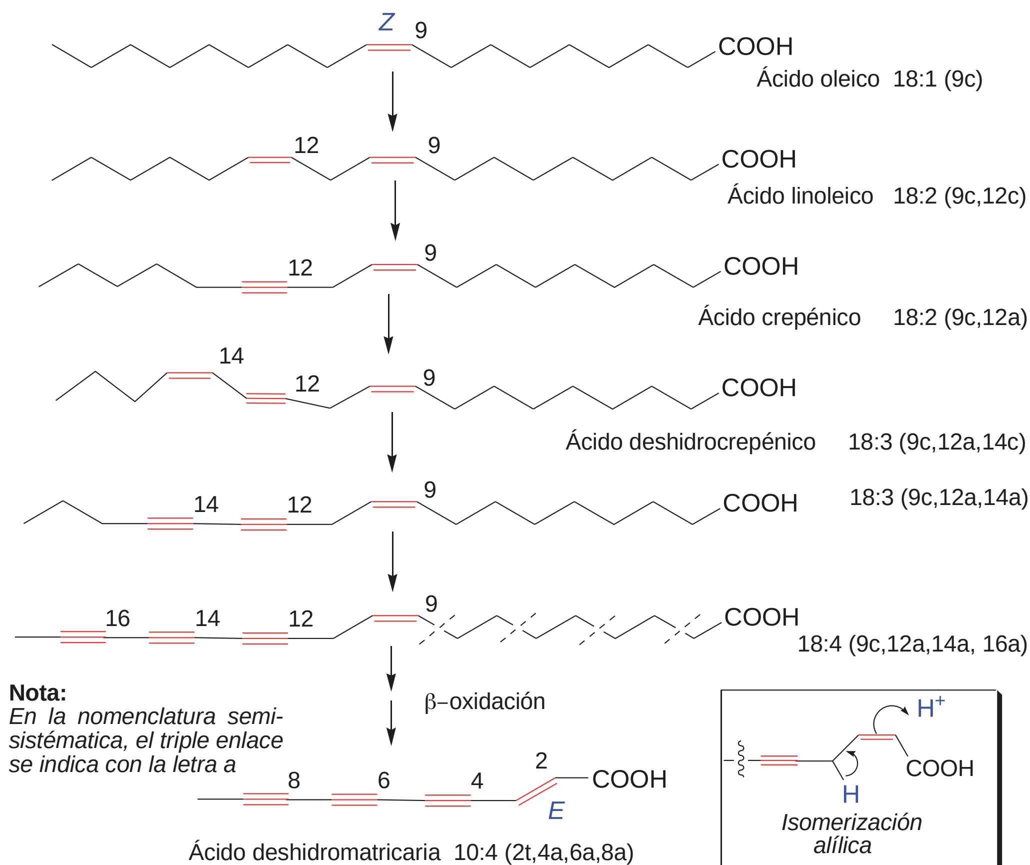


Figura 7.9. Proceso de desaturación del ácido oleico

El proceso de desaturación se muestra en la Figura 7.9 en donde el ácido oleico (probablemente como tioéster) actúa como precursor de los ácidos crepénico y deshidrocrepénico; la formación del ácido deshidromatricaria C_{10}, transcurre a través de los intermedios C_{18} con pérdida de ocho carbonos por sucesivas oxidaciones. En la última parte de la reacción, tiene lu-

gar una isomerización alilíca y el doble enlace *Z* del ácido oleico cambia a la configuración *E* que está más favorecida.

Otras modificaciones secundarias implican adiciones de grupos OH o SH a los triples enlaces para generar el gran número de acetilenos naturales conocidos, que en la actualidad sobrepasa ampliamente el millar.

7.5. EICOSANOIDES

Los eicosanoides son un grupo amplio de compuestos naturales de origen biogenético similar que derivan de ácidos poliinsaturados C_{20}. Aunque recientemente se han introducido en este grupo los compuestos llamados lipoxinas, habitualmente se consideran tres clases básicas de eicosanoides: las prostaglandinas (PG), los tromboxanos (TX) y los leucotrienos (LT) (Figura 7.10). Todos ellos ejercen un gran número de acciones fisiológicas en organismos animales.

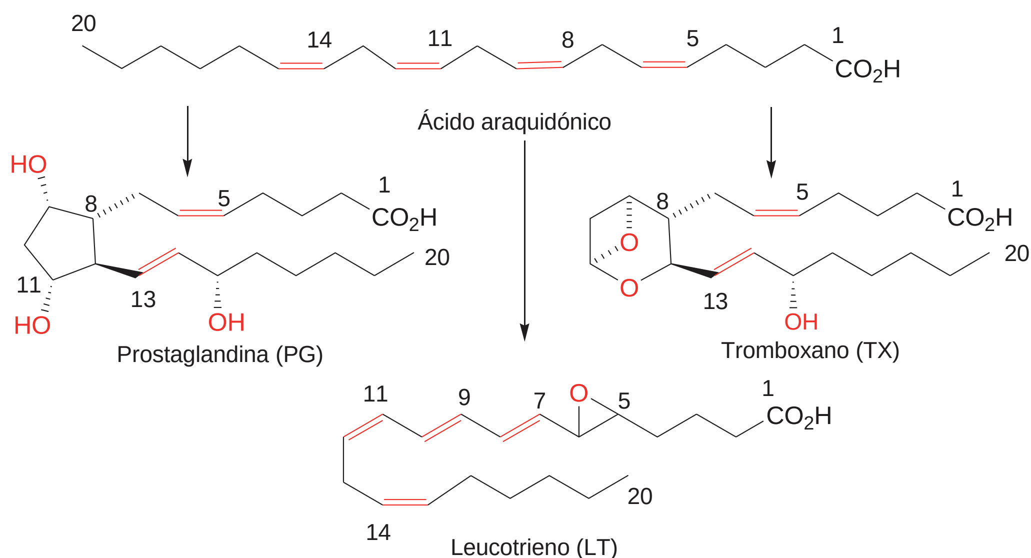


Figura 7.10. Eicosanoides

Los científicos suecos Sune K. Bergström y Bengt I. Samuelsson, junto con el británico John R. Vane, recibieron el Premio Nobel de Medicina en 1982, por sus trabajos en el aislamiento, identificación y análisis de estos compuestos.

7.5.1. Prostaglandinas

En las prostaglandinas (PG) está presente el esqueleto básico prostanoide que contiene un anillo de ciclopentano, una cadena lateral de 7 átomos de carbono con un grupo carboxilo y una cadena de 8 átomos de carbono con un grupo metilo terminal.

Tabla 7.3. Nomenclatura semi-sistemática de las prostaglandinas

Anillo pentagonal			
O PGA	O PGB	O PGC	HO O PGD
O HO PGE	HO HO PGF	O PGJ	

Cadena lateral	
COOH 15 13 OH	Serie 1
5 COOH 15 13 OH	Serie 2
5 COOH 15 13 17 OH	Serie 3

Las PG se aislaron por primera vez en el semen humano, e inicialmente se pensaba que provenían de la próstata aunque posteriormente se vio que se encuentran ampliamente distribuidas en el reino animal. Se utilizan para inducir el aborto, para ayudar al desarrollo del parto, para controlar la presión sanguínea y son también eficaces para disminuir la secreción gástrica.

Se conocen diferentes tipos de prostaglandinas, que se distinguen fundamentalmente, por el grado de funcionalización del anillo pentagonal y por el número y posición de los dobles enlaces C=C en las cadenas laterales. Existe una nomenclatura semi-sistemática para estos compuestos, que se muestra en la Tabla 7.3.

Estos compuestos son biosintetizados a partir de los tres ácidos grasos esenciales mostrados en la Figura 7.11, que conducen a la tres series, 1, 2 y 3, mostradas en la tabla anterior. Los tres precursores conducen a productos de estructuras similares variando el grado de insaturación de las cadenas.

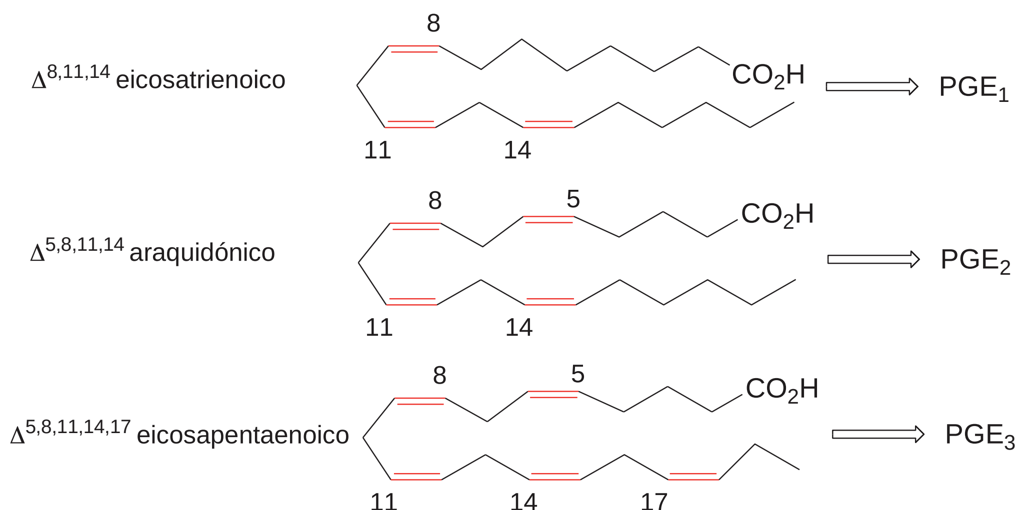


Figura 7.11. Ácidos grasos esenciales precursores de las prostaglandinas (PG)

En la Figura 7.12 se muestra como el ácido araquidónico se convierte en la prostaglandina G_2 (PGG_2) por medio de una enzima *ciclooxigenasa,* que es capaz de incorporar dos moléculas de oxígeno para forman un

compuesto con dos grupos peróxido, cíclico y acíclico. El proceso se inicia por abstracción por parte de un radical del centro activo de la enzima, de un hidrógeno de la posición C-13 del ácido araquidónico. El radical así formado experimenta una serie de transformaciones radicalarias hasta formar la PGG_2. La PGH_2 se obtiene por reducción del grupo peróxido acíclico a grupo hidroxilo.

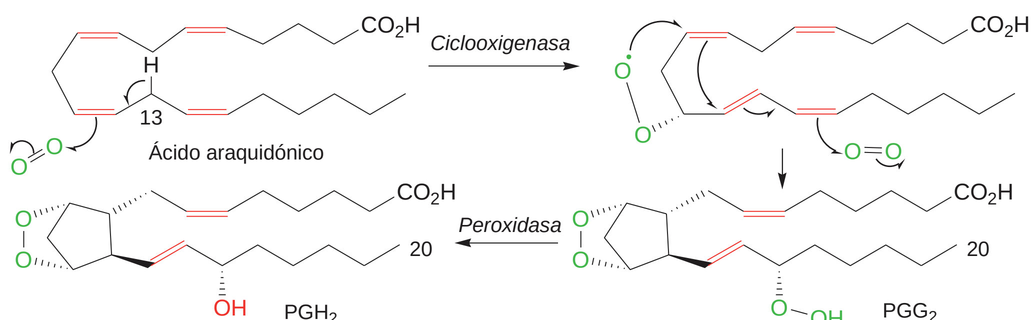


Figura 7.12. Formación de las PGG_2 y PGH_2 a partir del ácido araquidónico

7.5.2. Tromboxanos y leucotrienos

Los tromboxanos se aislaron de las plaquetas (trombocitos) y tienen una gran influencia en los procesos de coagulación sanguínea. Son moléculas heterocíclicas que contienen al menos un átomo de oxígeno. La abreviatura para estos compuestos es TX y también se clasifican en series y subseries como las prostaglandinas.

La biogenésis de estos compuestos se muestra en la Figura 7.13. La función peróxido y el anillo de ciclopentano de la PGH_2, se eliminan y se reestructuran para formar el tromboxano A_2, que contiene un anillo de cuatro miembros muy inestable que reacciona con facilidad con nucleófilos; en medio acuoso conduce al hemiacetal tromboxano B_2.

Los leucotrienos se identificaron en los glóbulos blancos (leucocitos), por ello se les conoce como leucotrienos ya que aunque tienen cuatro dobles enlaces, inicialmente se pensaba que tenían solo tres enlaces conjugados (de ahí el nombre trieno). Son moléculas completamente lineales implicadas en procesos inflamatorios y respuestas alérgicas

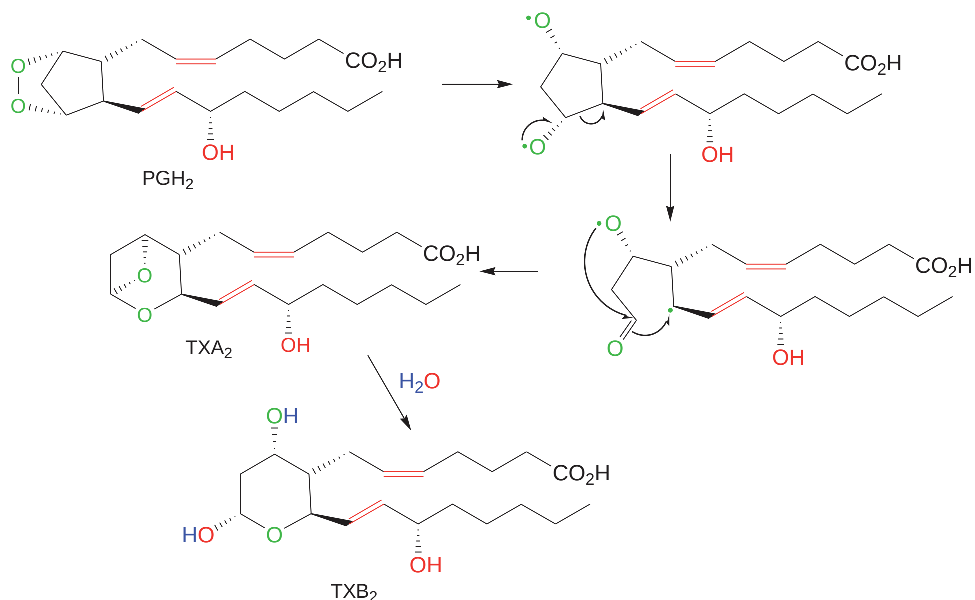


Figura 7.13. Posible mecanismo de biogénesis de los tromboxanos

Estos compuestos tienen rutas biosintéticas muy interesantes, que se indica de modo resumido en la Figura 7.14. El ácido araquidónico se convierte en un hidroperóxido, por oxigenación en el carbono 5. El compuesto formado pierde agua vía formación de un epóxido para dar el leucotrieno A_4. El epóxido alílico formado es muy inestable y se hidroliza fácilmente, por adición conjugada, para dar el leucotrieno B_4.

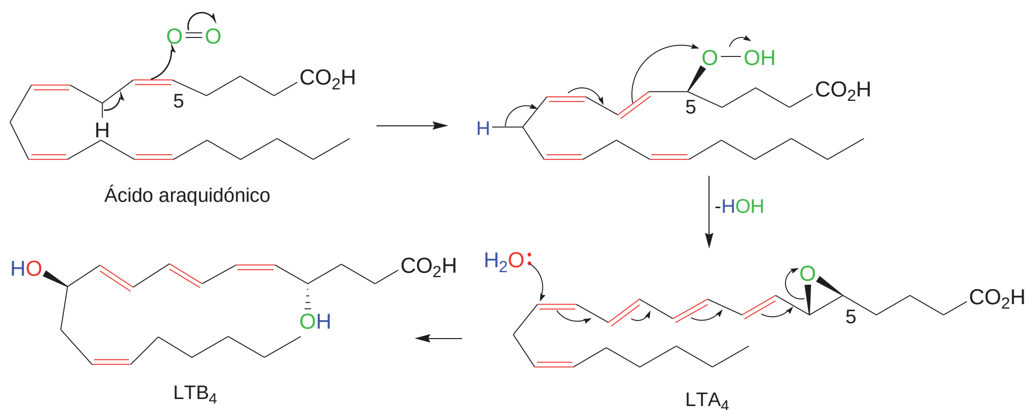


Figura 7.14. Posible mecanismo de biogénesis de los leucotrienos

7.6. POLICÉTIDOS DE TIPO MACRÓLIDO

Los policétidos de tipo macrólido son productos naturales con actividad antibiótica o antifúngica, aislados fundamentalmente a partir de hongos o microorganismos. Estos compuestos se caracterizan por tener un anillo macrocíclico de lactona generalmente de 12, 14 o 16 miembros y constituyen ejemplos de productos naturales que provienen del acetato pero formados principalmente por unidades de propionato, o mezclas de unidades de propionato y acetato.

Uno de los macrólidos más utilizados es la eritromicina (Figura 7.15), fue descubierta en 1952 y su primera síntesis química no se consiguió hasta 1981 por el grupo del profesor Robert B. Woodward, de la Universidad de Harvard.

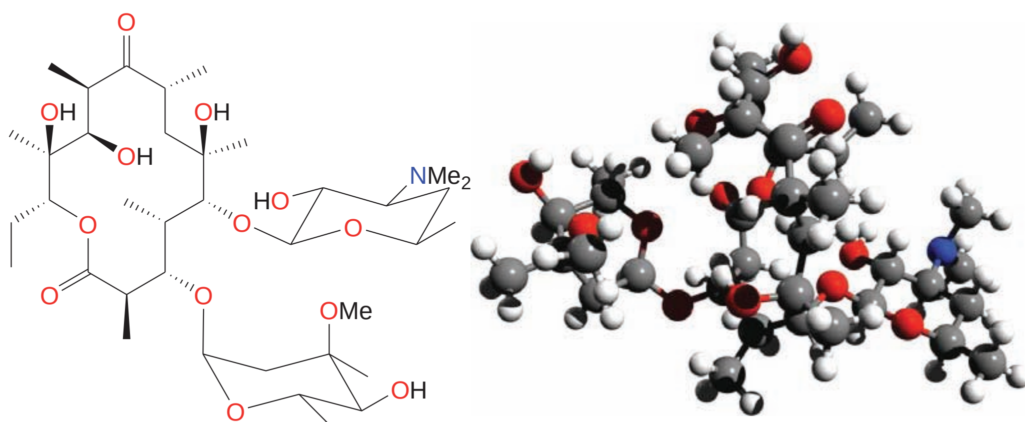


Figura 7.15. Fórmulas eritromicina A

La eritromicina A contiene un macrociclo de 14 miembros formado por unidades de propionato que provienen de una unidad iniciadora de propionilcoenzima A y seis unidades alargadoras de metilmalonil-CoA. Además contiene azúcares unidos a través de enlaces glicosídicos.

En la Figura 7.16 se muestra la biosíntesis de la eritromicina A. La extensión de la cadena y los procesos de reducción conducen a un policétido unido a la enzima, en el cual un grupo carbonilo se ha reducido completamente, cuatro se han reducido a alcoholes y uno permanece inalterado durante toda la secuencia biosintética. Como intermedio se forma el macró-

lido desoxieritronolida y la estereoquímica de la cadena está controlada en las etapas de reducción y condensación, existiendo un alto grado de uniformidad estereoquímica en todos los antibióticos macrocíclicos. En la última etapa de la biosíntesis ocurren hidroxilaciones en los carbonos 6 y 12 y la adición de azúcares en las posiciones 3 y 5.

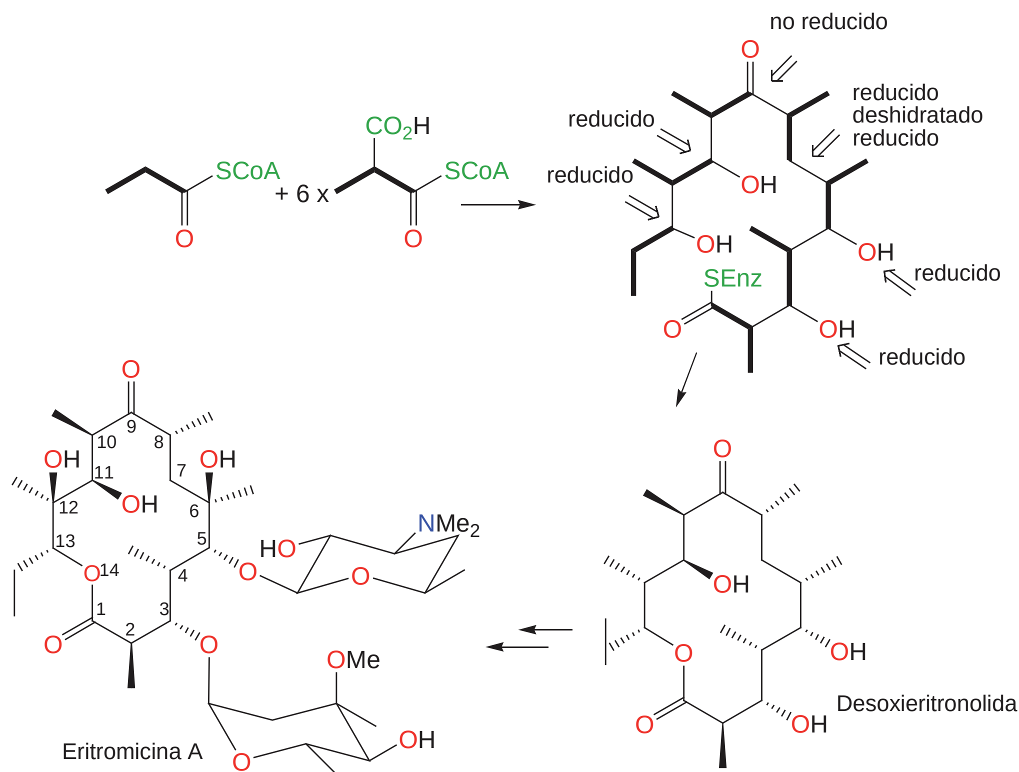


Figura 7.16. Biosíntesis de la eritromicina

Un macrólido inusual pero clínicamente muy significativo es el tacrolimus (también conocido como FK-506) (Figura 7.17), es un fármaco inmunosupresor utilizado principalmente después de los trasplantes, para reducir la actividad del sistema inmune y de este modo disminuir el riesgo de rechazo. Contiene una macrolactona de 23 miembros y también incorpora un anillo heterocíclico nitrogenado.

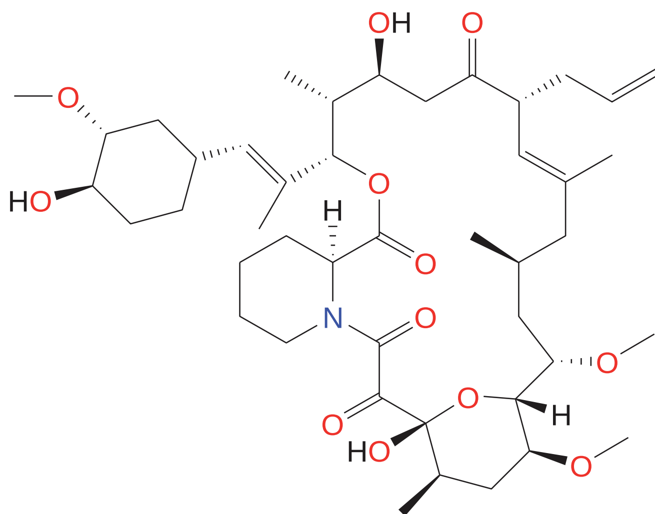


Figura 7.17. Macrólido tacrolimus

7.7. POLICÉTIDOS AROMÁTICOS

Como se ha visto en la biosíntesis de ácidos grasos, la reducción después de cada etapa de condensación, permite la formación de una cadena hidrocarbonada. En ausencia de este proceso de reducción se obtiene un poli-β-cetoéster (policétido) con grupos carbonilo en posiciones alternadas (Figura 7.18).

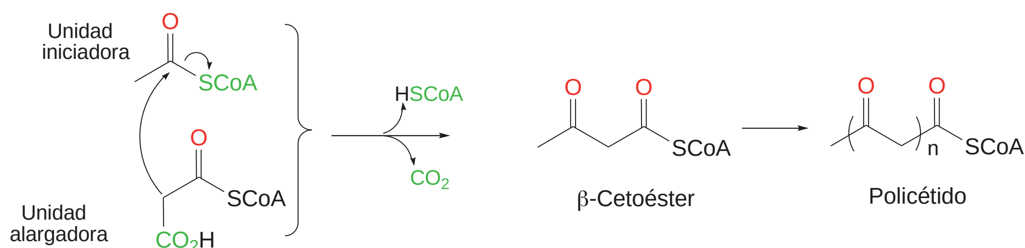


Figura 7.18. Formación de policétidos

El policétido formado es muy reactivo y puede originar compuestos aromáticos por ciclación. Existen diferentes posibilidades para producir condensaciones intramoleculares, que dependen de la forma en la que el

sustrato se pliegue, lo cual a su vez depende de la enzima que actúa; los productos finales de la ciclación son anillos de seis miembros, libres de tensión.

En la Figura 7.19 se observa como un compuesto tetracétido resultante de la unión global de cuatro unidades formales de acetato (un grupo acetato como unidad iniciadora y tres cadenas de malonato como unidades alargadoras), se pliega de un modo determinado (plegamiento A) para dar el ácido 6-metil-2,4-dihidroxibenzoico (ácido orsenílico). Se ha producido una reacción de tipo aldólico entre un carbono de reactividad potencial nucleófila (contiguo a dos grupos carbonilo) con otro de reactividad electrófila (C=O). La adición del carbanión (o ion enolato) al carbonilo situado a seis carbonos de distancia, da lugar a un alcohol terciario; posteriormente se deshidrata para dar el alqueno que experimenta enolización favorecida por la formación del anillo aromático. El enlace tioéster (de la coenzima A o de la proteína transportadora de acilo ACP) finalmente se hidroliza para dar el ácido orsenílico.

Alternativamente, plegando el policétido como en B ocurre una reacción de Claisen, que finaliza con la expulsión del tiolato de la enzima como grupo saliente. La enolización de la ciclohexatriona conduce a 2,4,6-trihidroxiacetofenona (floroacetofenona). Del mismo modo que con las *sintasas de los ácidos grasos*, la secuencia total de las reacciones se lleva a cabo por un complejo enzimático que convierte la acetil-CoA y la malonil-CoA en el producto final sin que sea posible detectar intermedios.

Una característica común de los policétidos aromáticos derivados del acetato, es que retienen varios de los oxígenos carbonílicos presentes en el poli-β-cetoéster, en carbonos alternados (oxigenación en *meta*) del anillo aromático con lo que son fácilmente reconocidos.

La Figura 7.19 muestra solo alguna de las posibilidades, pero las modificaciones estructurales que puede experimentar el policétido antes del plegamiento o en la fase de ensamblaje pueden ser muy variadas (alquilaciones de carbonos nucléofilos, reducciones de grupos carbonilo, oxigenaciones de enlace C-H, roturas oxidativas, acoplamientos fenólicos, descarboxilaciones, etc.) por lo que conocer el transcurso de la biogénesis de muchos policétidos aromáticos es una tarea muy compleja y requiere una gran experiencia.

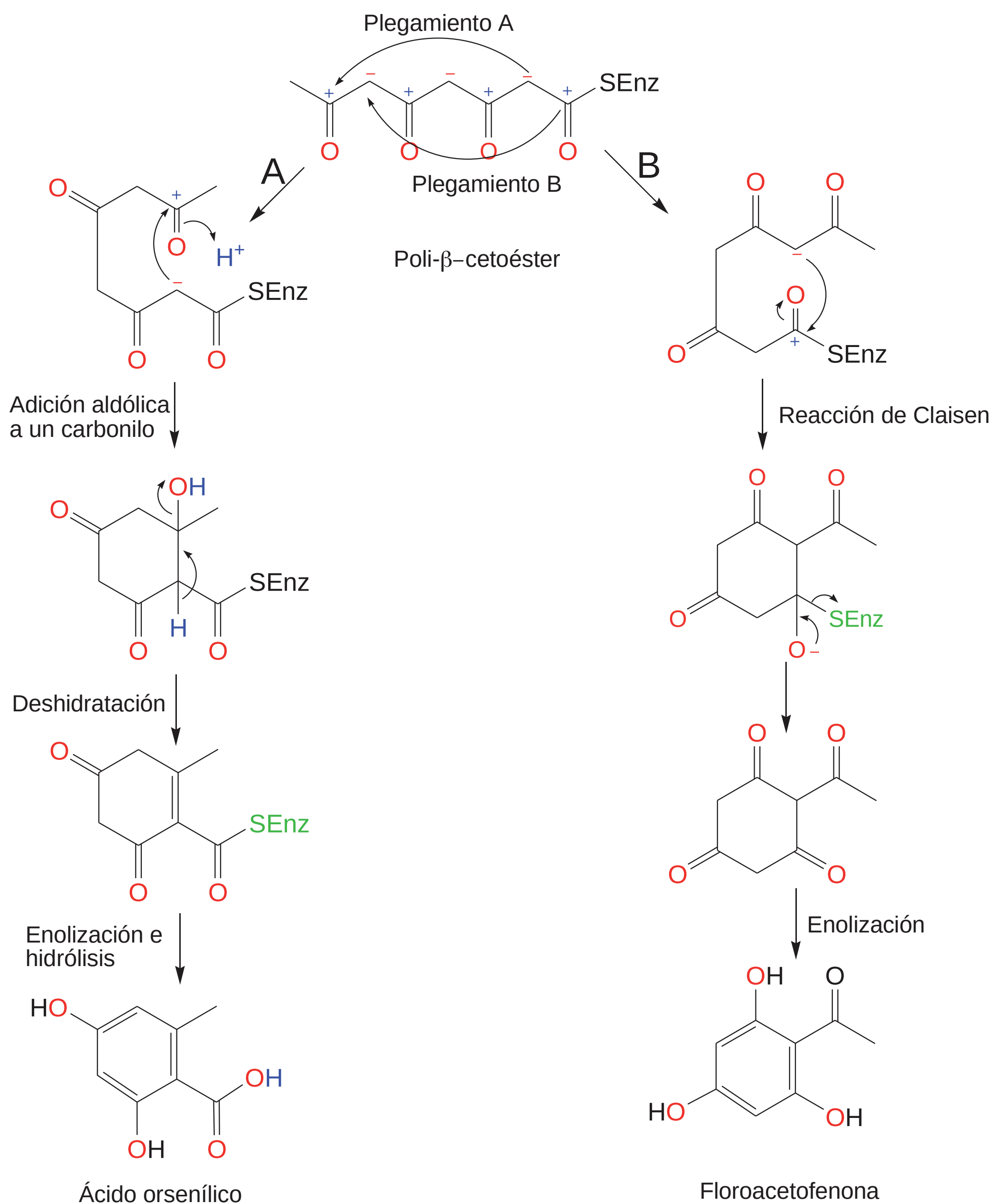


Figura 7.19. Modos de plegamiento en un tetracétido

CONCEPTOS CLAVE

1. Los policétidos, también llamados acetogeninas, constituyen una gran clase de productos naturales de origen biogenético común. Sus estructuras derivan de cadenas de poli-β-cetoéster, formadas por acoplamiento de unidades de acetilcoenzima A, vía reacciones de condensación.

2. Los ácidos grasos naturales más abundantes son ácidos carboxílicos saturados lineales, de número par de átomos de carbono y tienen la fórmula general: CH_3-$(CH_2)_n$COOH. Se clasifican como metabolitos primarios debido a su ubicuidad y a los papeles vitales que desempeñan y solo se consideran metabolitos secundarios a los menos comunes.

3. La biosíntesis de los ácidos grasos saturados está catalizada por la enzima *sintasa del ácido graso*, que es una proteína multifuncional que contiene todos los sitios catalíticos requeridos.

4. La mayoría de los ácidos grasos insaturados pertenecen a la serie C_{18}, siendo raros los más cortos de C_{14} o más largos de C_{22}. Los dobles enlaces son *cis* o *Z* y son poco frecuentes los ácidos grasos con dobles enlaces *trans* o *E*.

5. Los ácidos grasos insaturados se originan por dos tipos de vías diferentes, una de ellas tiene lugar en la gran mayoría de los compuestos aerobios y la otra ocurre en organismos anaerobios y en algunos aerobios.

6. En los organismos aerobios, es frecuente encontrar ácidos grasos con muchos dobles enlaces siendo el ácido oleico el precursor biogénetico de la mayoría de ellos.

7. Los ácidos grasos acetilénicos están ampliamente distribuidos y presentes en las plantas superiores. Tienden a poseer espectros de absorción UV, intensos y característicos, lo que facilita su detección y aislamiento.

8. Los eicosanoides son un grupo amplio de compuestos naturales de origen biogenético similar que derivan de ácidos poliinsaturados C_{20}. Se consideran tres clases básicas: las prostaglandinas (PG), los tromboxanos (TX) y los leucotrienos (LT).

9. En las prostaglandinas (PG) está presente el esqueleto básico prostanoide que contiene un anillo de ciclopentano, una cadena lateral de 7 átomos de carbono con un grupo carboxilo y una cadena de 8 átomos de carbono con un grupo metilo terminal.

10. Los tromboxanos se aislaron de las plaquetas (trombocitos) y tienen una gran influencia en los procesos de coagulación sanguínea. Los leucotrienos se identificaron en los glóbulos blancos (leucocitos), son moléculas completamente lineales implicadas en procesos inflamatorios y respuestas alérgicas

11. Los policétidos de tipo macrólido son productos naturales con actividad antibiótica o antifúngica, aislados fundamentalmente a partir de hongos o microorganismos y se caracterizan por tener un anillo macrocíclico de lactona.

12. La ciclación de un poli-β-cetoéster (policétido) conduce a compuestos aromáticos por condensaciones intramoleculares. Dependiendo del modo de plegamiento del sustrato se obtienen diferentes productos.

13. Una característica común de los policétidos aromáticos derivados del acetato, es que retienen varios de los oxígenos carbonílicos presentes en el poli-β-cetoéster, en carbonos alternados (oxigenación en *meta*) del anillo aromático con lo que son fácilmente reconocidos.

EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACION

1. Dar la fórmula y el nombre común de los siguientes ácidos grasos:

   a) 18:3 (9c,12c,15c)

   b) 20:4 (5c,8c,11c,14c)

   c) 18:2 (9c,12a)

   d) 10:4 (2t,4a,6a,8a)

2. La biosíntesis del ácido pentadecanoico (C_{15}) tiene lugar utilizando propioniltioéster ($CH_3CH_2COSEnz$) como unidad iniciadora y maloniltioéster ($HOOCCH_2COS$-ACP) como unidad alargadora. Indicar como transcurre la reacción.

3. Dar la fórmula estructural de las siguientes prostaglandinas:

   a) PGF_2

   b) PGA_2

   c) PGC_1

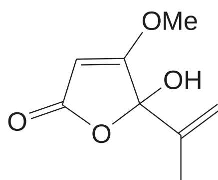
   d) PGB_3

4. Formular la ruta biosintética para obtener el ácido 6-metilsalicílico a partir de una unidad iniciadora de acetil-CoA y tres unidades alargadoras de malonil-CoA.

5. El ácido 5-metil-3-metoxi-1-naftoico forma parte de la estructura del antibiótico azinomicina A. Proponer el esquema biosintético para la preparación de este derivado del naftaleno, a partir del ácido 3,5,7,9,11-pentaoxododecanoico.



6. El ácido penicilínico, aislado del hongo *Penicilium cyclopium*, deriva biogenéticamente del ácido orsenílico. Representar en un esquema como transcurren las reacciones.

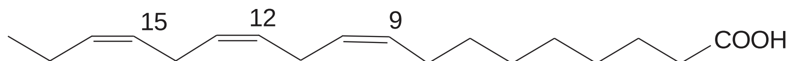


Ácido penicílinico

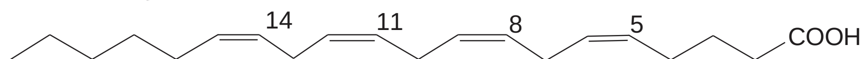
SOLUCIONES A LOS EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

1.

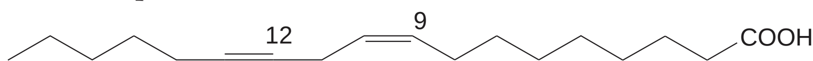
a) Ácido α-linolénico



b) Ácido araquidónico



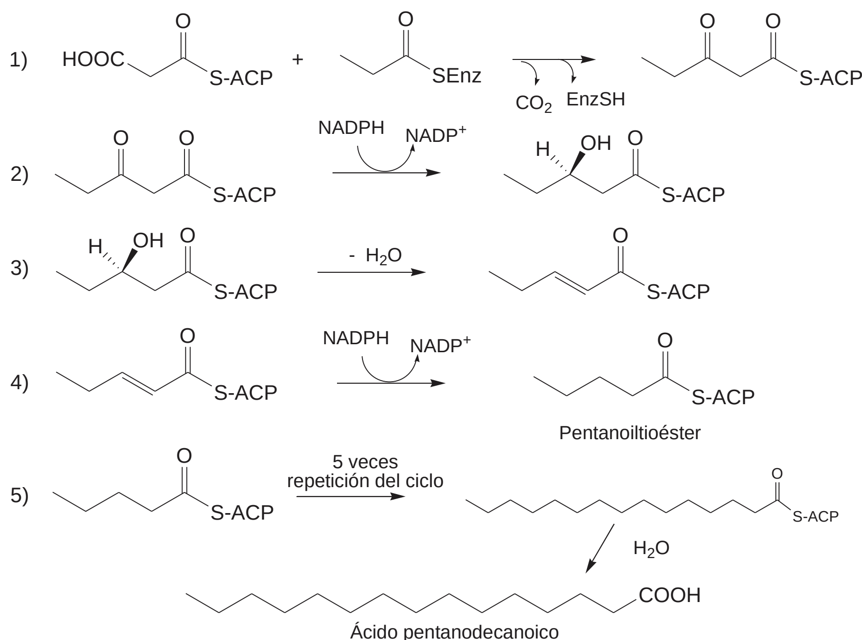
c) Ácido crepénico



d) Ácido deshidromatricaria

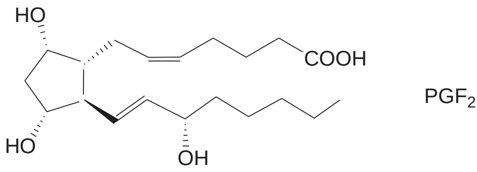


2. Dado que el ácido pentanodecanoico tiene 15 carbonos, se requieren 6 ciclos. En el primer paso, se forma el tioéster de cinco carbonos y en los pasos sucesivos se alarga la cadena en dos átomos de carbono cada vez:



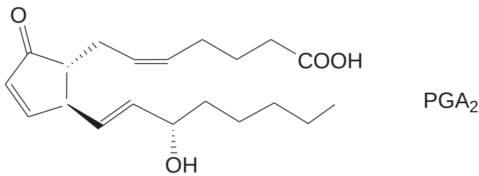
3.

a)



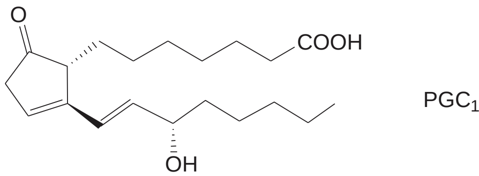
PGF$_2$

b)



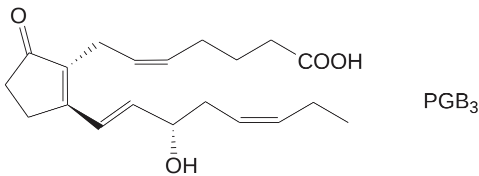
PGA$_2$

c)



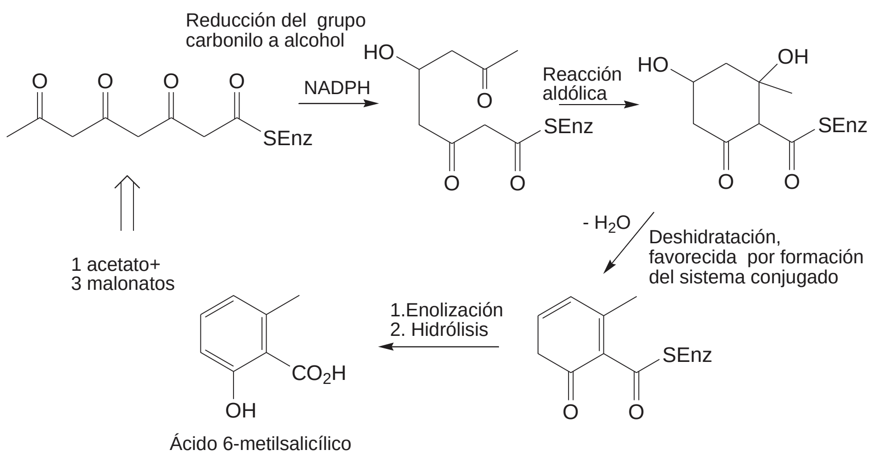
PGC$_1$

d)

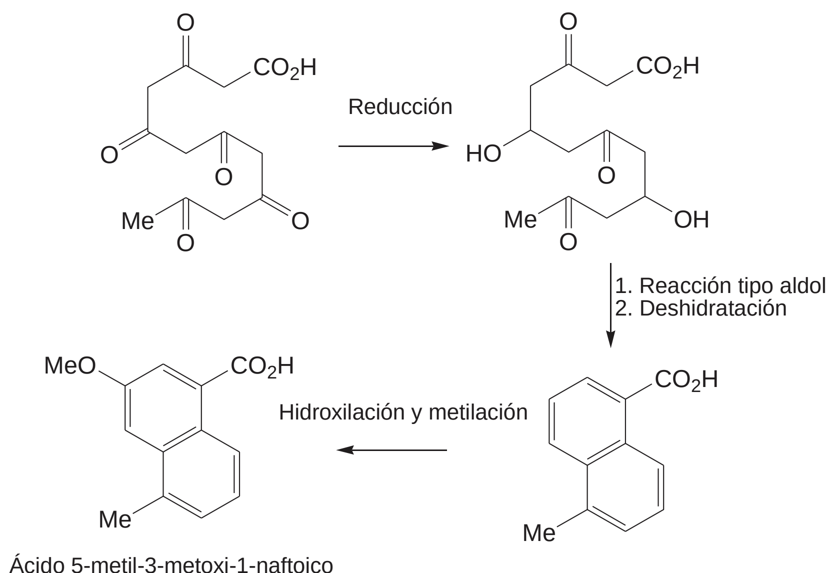


PGB$_3$

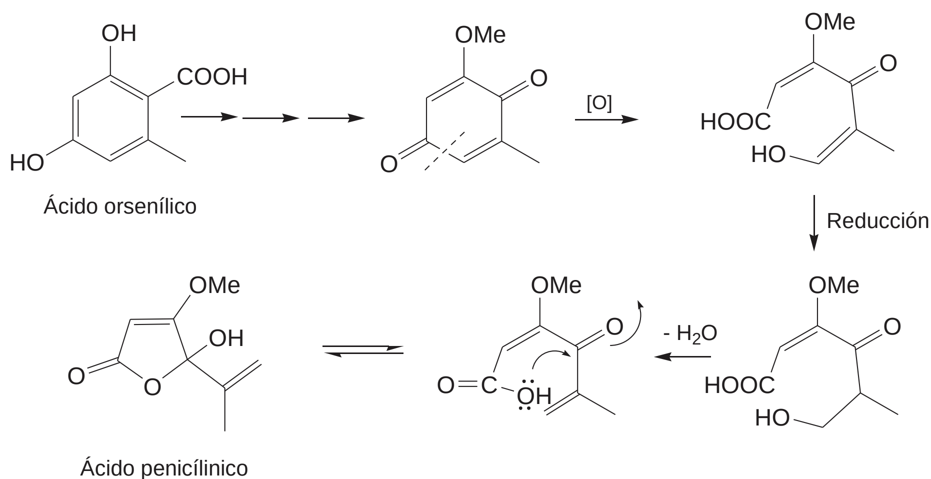
4.



5.



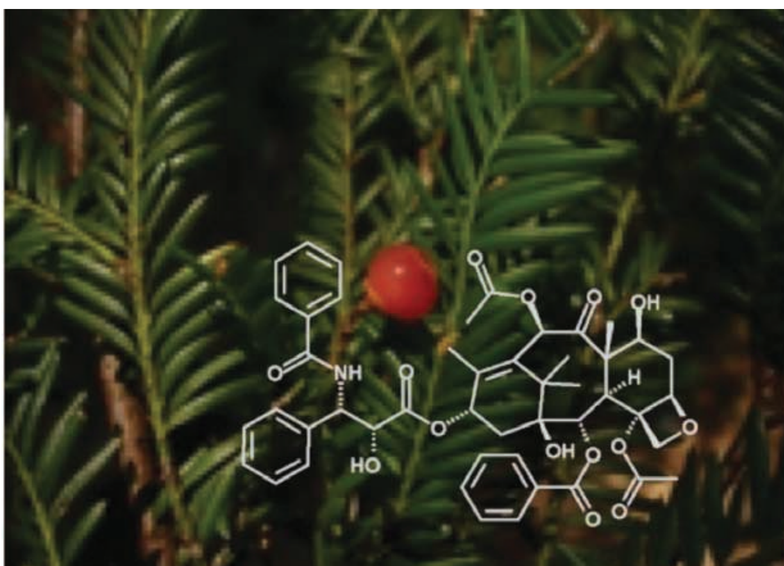
6. Las primeras etapas son descarboxilación oxidativa, metilación con SAM y oxidación de quinol a quinona. El siguiente paso es la etapa clave, rotura oxidativa del enlace C-C del anillo aromático. La reducción posterior, deshidratación y formación del hemiacetal, conduce al ácido penicilínico.



TEMA 8

LA VÍA DEL MEVALONATO

María de los Ángeles Farrán Morales



Hojas de tejo (*Taxus Brevifolia*) de cuya corteza se extrae el Taxol

SUMARIO

OBJETIVOS

General

Describir los terpenos y conocer los principales mecanismos por los que transcurre su formación.

Específicos

1. Conocer el origen de los terpenos y su clasificación de acuerdo a su origen biogenético.
2. Formular la ruta del ácido mevalónico que da lugar a la formación de los hemiterpenos, compuestos clave en la biosíntesis de los terpenos.
3. Identificar las unidades estructurales presentes en los terpenos.
4. Explicar cómo trascurre la formación de los diferentes tipos de terpenos y formular los precursores clave de cada uno de ellos.
5. Ilustrar el sistema tetracíclico presente en los esteroides y exponer alguna función biológica representativa.

8.1. TERPENOS: ESTRUCTURA Y CLASIFICACIÓN

Los terpenos, también denominados terpenoides o isoprenoides, constituyen el grupo de productos naturales más numeroso; su nombre proviene de la trementina o resina de los pinos (en alemán *terpentin*). Derivan del isopreno (2-metil-1,3-butadieno) y pueden encontrarse en todas las partes de las plantas superiores y también en animales, bacterias y hongos. La gran mayoría de estos compuestos se encuentran en las plantas, en forma de aceites esenciales. Además de su uso como aromas y fragancias en la industria de los alimentos y en perfumería, algunos tienen propiedades farmacológicas.

Los terpenos pueden clasificarse según el número de unidades de isopreno C_5 que incorporan en su estructura. La regla del isopreno o regla isoprénica fue propuesta por Leopold Ruzicka en 1953 basándose en la observación de Otto Wallach sobre la unidad repetitiva de isopreno descubierta en 1887 y cuyo enunciado es el siguiente, «*los esqueletos carbonados de los terpenos son divisibles en un número entero de unidades isopréncias conectadas cabeza-cola*». En la Figura 8.1 se muestra la estructura de la unidad de isopreno de los terpenos, la definición *cabeza* y *cola* y la clasificación en: hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), sesterterpenos (C_{25}), triterpenos (C_{30}), tetraterpenos (C_{40}) y politerpenos ($> C_{40}$).

Los terpenos naturales que reúnen exactamente el concepto de combinación lineal *cabeza-cola* de unidades de isopreno son relativamente escasos, geraniol, farnesol y geranilgeraniol son algunos ejemplos, pero hay terpenos como el escualeno y el fitoeno que aunque están formados por unidades de isopreno, la unión en el centro de sus moléculas es *cola-cola*. Otros compuestos se encuentran modificados por reacciones de ciclación formando terpenos bi, tri, tetra y pentacíclicos y en donde la separación neta de *cabeza* y *cola* no se cumple en su forma estricta.

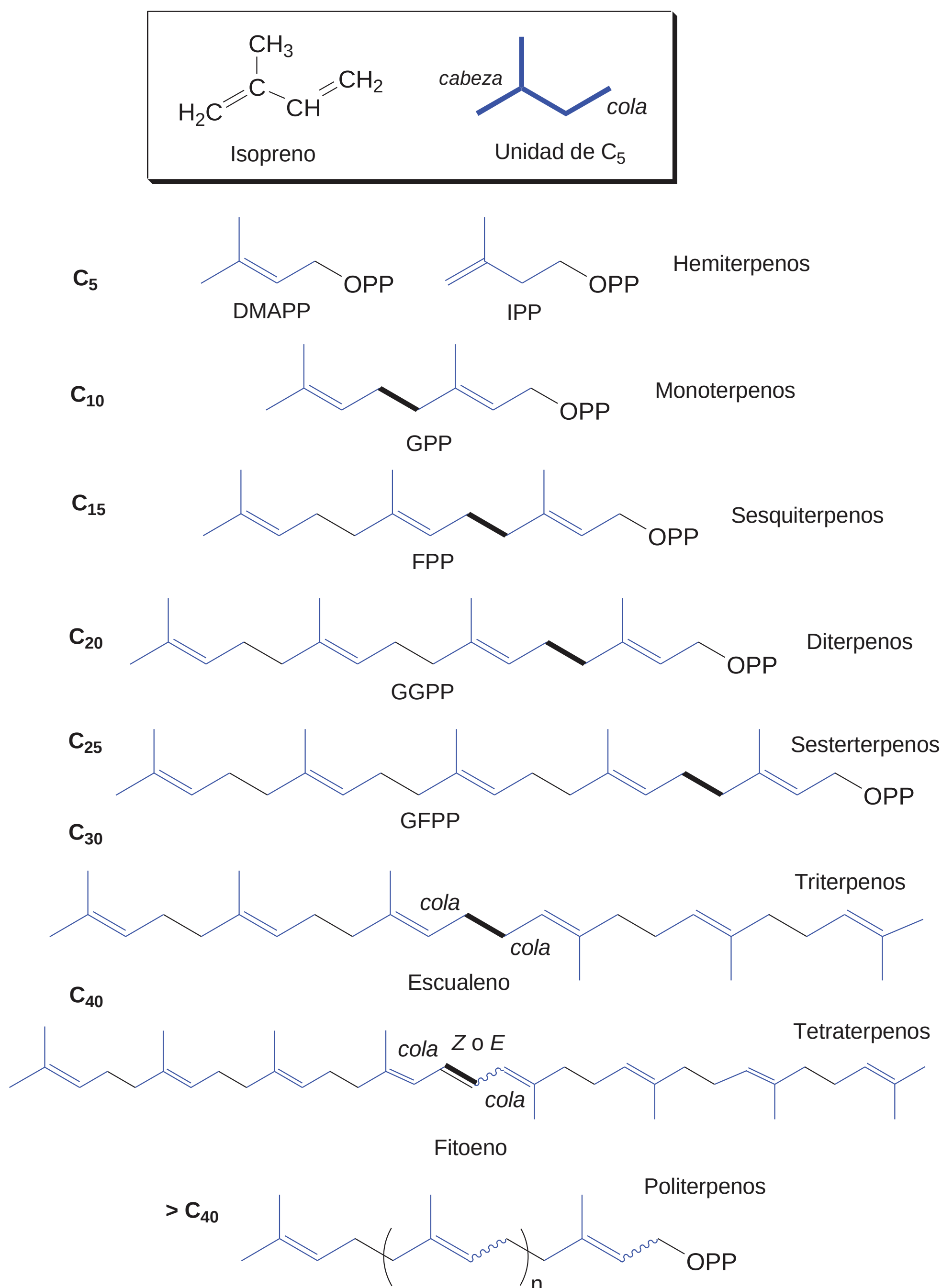


Figura 8.1. Precursores generales de los terpenos

Los precursores de los terpenos hasta C_{25} son pirofosfatos de alcoholes alílicos y los de los terpenos C_{30} y C_{40} son hidrocarburos poliolefínicos, escualeno y fitoeno respectivamente.

También existen compuestos de origen biogenético mixto con estructura parcial terpénica pero que contienen otras unidades estructurales como, por ejemplo, las vitaminas liposolubles E (tocoferoles) con estructura de tipo fenólico, las vitaminas K de tipo naftoquinónico, o las ubiquinonas y plastoquinonas, también de gran importancia biológica y que derivan de la *p*-benzoquinona.

8.2. BIOSÍNTESIS DE TERPENOS

Desde que se observó la unidad repetitiva del isopreno en los terpenos, se trató de explicarlo mediante el estudio de las rutas metabólicas. La elucidación de la ruta metabólica del colesterol en los años sesenta por parte de Konrad Bloch y Feodor Lynen, sobre la base de los estudios realizados por John Cornforth y George Popjack, dio a conocer las reacciones químicas que explican porqué los terpenos están compuestos de unidades de cinco átomos de carbono. El compuesto de partida es el pirofosfato de isopentenilo (IPP) que, dependiendo del organismo o de la naturaleza química del terpeno final, puede obtenerse mediante dos vías diferentes (Figura 8.2). En animales y plantas superiores, el compuesto de partida es el ácido mevalónico (MVA), y algunas plantas, algas, bacterias y organismos patógenos, como el parásito de la malaria, lo sintetizan desde la 1-desoxi-D-xilulosa-5-fosfato (DXP) (ver Ejercicio de autocomprobación n.º 2). Algunas bacterias utilizan los dos compuestos de partida indistintamente.

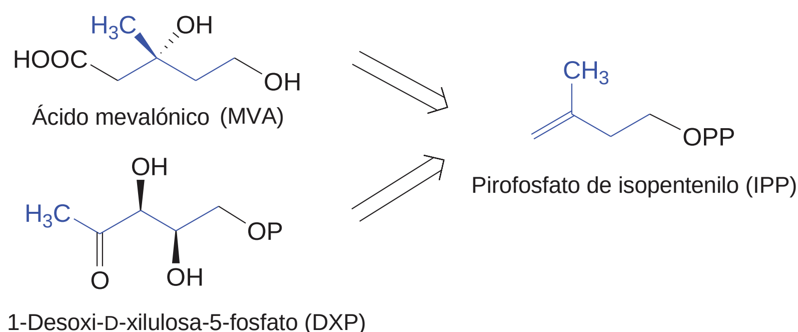


Figura 8.2. Estructura del IPP y la de sus precursores

8.3. RUTA DEL ÁCIDO MEVALÓNICO: FORMACIÓN DE HEMITERPENOS (C_5)

Esta ruta consta de varias etapas, tal y como se muestra en la figura 8.3. La primera etapa consiste en la condensación de tipo Claisen de dos moléculas de acetil-CoA para obtener acetoacetil-CoA. La segunda etapa es una condensación tipo aldol de la acetoacetil-CoA con una tercera molécula de acetil-CoA; el producto formado se denomina 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA (HMG-CoA). Esta tercera molécula de acetil-CoA se encuentra enlazada a una enzima con un grupo tiol que facilita la hidrólisis para formar el grupo ácido de HMG-CoA. La conversión de este último ácido en el ácido (*R*)-mevalónico (MVA) implica una reducción con dos moléculas de NADPH: la primera reduce el grupo tioéster a aldehído y la segunda reduce el aldehído a alcohol. El ácido mevalónico se transforma en el isopreno fosforilado de forma secuencial por acción del ATP. Finalmente, el

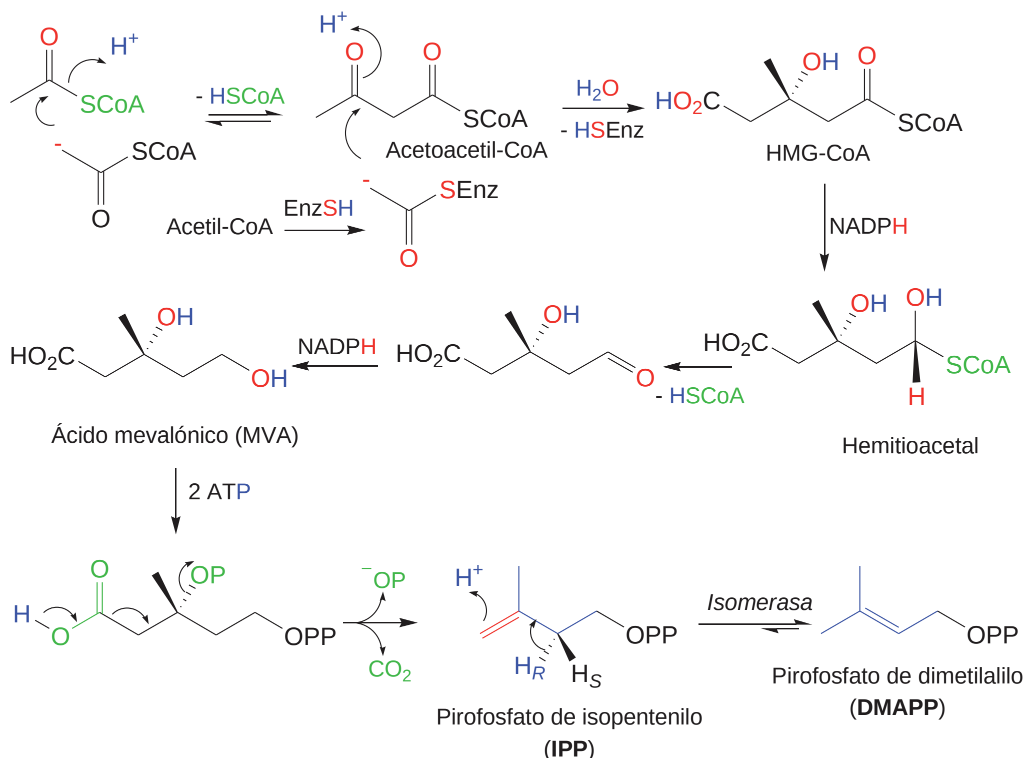


Figura 8.3. Formación de las unidades C5 (IPP y DMAPP) a partir del ácido mevalónico

pirofosfato de isopentenilo (IPP) se isomeriza para formar otro hemiterpeno, el pirofosfato de dimetilalilo (DMAPP); esta isomerización es estereoespecífica y el equilibrio se encuentra desplazado hacia la formación del DMAPP. Estos dos compuestos son los pilares básicos de la biosíntesis de los terpenos.

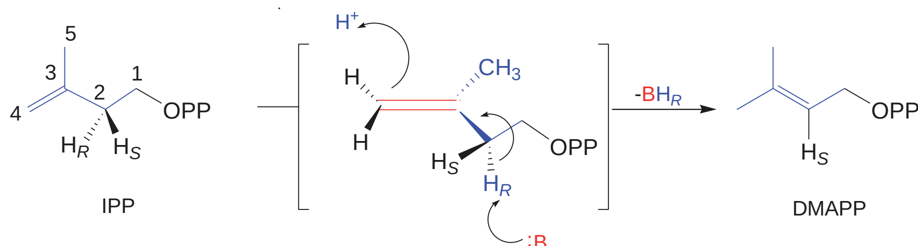


Figura 8.4. Isomerización del IPP al DMAPP

El mecanismo de isomerización del IPP al DMAPP se muestra en la Figura 8.4. El proceso implica la eliminación estereoespecífica del protón *pro-R* (H_R) del C-2 e incorpora un protón de medio al C-4. Esta isomerización es reversible y está catalizada por la enzima *IPP isomerasa*, que necesita cationes de Mg^{2+} o Zn^{2+} como cofactores con la función de formar quelatos con los grupos fosfato del IPP.

Tabla 8.1. Terpenos y sus precursores generales

Terpeno	Precursor
Hemiterpeno (C_5)	IPP, DMAPP
Monoterpeno (C_{10})	DMAPP + IPP → GPP
Sesquiterpeno (C_{15})	GPP + IPP → FPP
Diterpeno (C_{20})	FPP + IPP → GGPP
Sesterterpeno (C_{25})	GGPP + IPP→ GFPP
Triterpeno (C_{30})	FPP + FPP → Escualeno
Tetraterpeno (C_{40})	GGPP + GGPP → Fitoeno
Politerpeno (C_n)	GFPP + IPP + IPP +····· →

En la Tabla 8.1 se pueden ver cada grupo de terpenos y su precursor. Los fragmentos de cinco átomos de carbono IPP y DMAPP se combinan para formar la unidad C_{10}, el pirofosfato de geranilo (GPP) y así sucesiva-

mente para obtener los terpenos de mayor número de átomos de carbono. Esta tabla junto con la figura 8.1 (en donde se han resaltado con trazo grueso los nuevos enlaces C-C formados) recogen los precursores clave de los terpenos y su procedencia.

8.4. MONOTERPENOS (C_{10})

Se conocen alrededor de mil compuestos monoterpénicos y constituyen, junto con los sesquiterpenos, la mayor parte de los aceites esenciales de las plantas. La mayoría son líquidos volátiles aunque hay algunos sólidos como el alcanfor o el mentol.

Desde el punto de vista estructural pueden dividirse en tres categorías: lineales o acíclicos, monocíclicos y bicíclicos (también se ha descrito un pequeño número de monoterpenos tricíclicos). En la figura 8.5 se muestran algunos ejemplos.

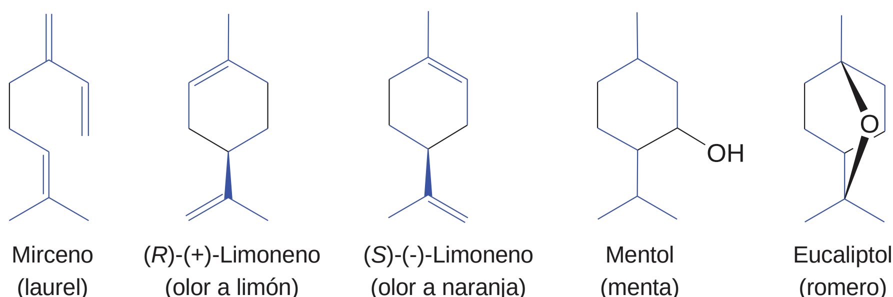


Figura 8.5. Monoterpenos lineales y cíclicos

La combinación del DMAPP y del IPP por medio de la enzima *preniltransferasa* conduce al pirofosfato de geranilo (GPP). En la Figura 8.6 se muestra el mecanismo que transcurre vía S_N1: primero se produce la ionización del DMAPP para formar un carbocatión alílico que como electrófilo se adiciona al doble enlace del IPP para generar un carbocatión terciario, el cual pierde un protón de manera estereoespecífica (el mecanismo es análogo al mostrado anteriormente, ver Figura 8.4) formando un nuevo doble enlace *trans*, *E,* para obtener el GPP.

El geraniol se obtiene por hidrólisis del grupo pirofostato (OPP) y el geranial por oxidación del grupo alcohol del geraniol a aldehído.

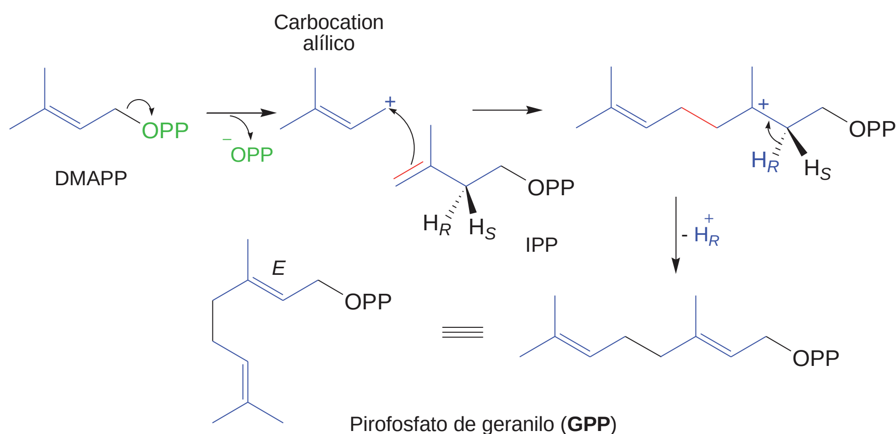


Figura 8.6. Formación del pirofosfato de geranilo (GPP)

La configuración *trans* del doble enlace en el GPP no permite la ciclación, sin embargo los isómeros del GPP, pirofosfato de linalilo (LPP) y pirofosfato de nerilo (NPP) tienen la estereoquímica favorable (Figura 8.7).

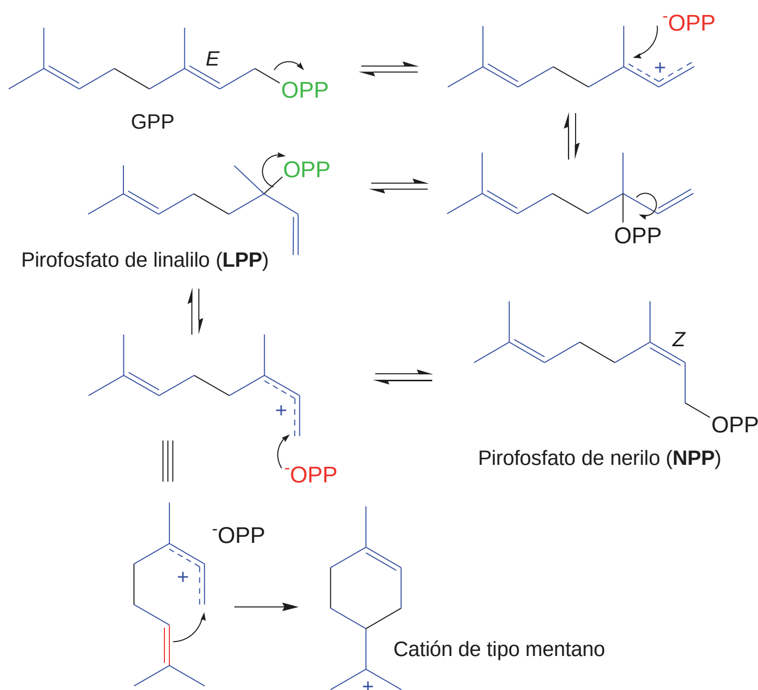


Figura 8.7. LPP y NPP: isómeros del pirofosfato de geranilo

Los isómeros del GPP se forman vía carbocatión; el grupo difosfato puede migrar a la posición 3 como ocurre en el pirofosfato de linalilo o bien producirse un cambio en la estereoquímica del doble enlace (a *Z*) como se observa en el pirofosfato de nerilo. Estos dos compuestos son los precursores inmediatos del sistema cíclico mentano, cuya formación procede por ataque electrófilo intramolecular como se muestra en la Figura 8.7.

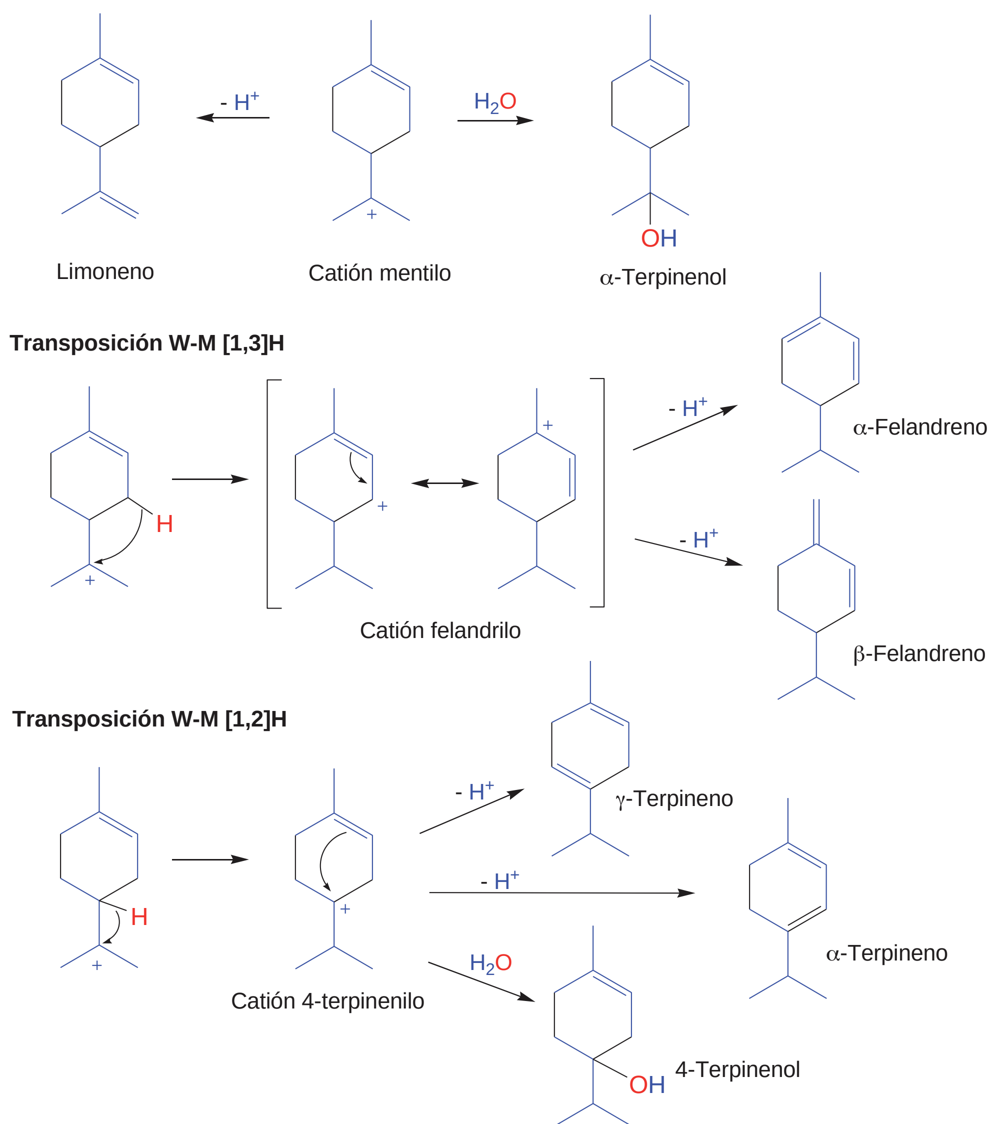


Figura 8.8. Reactividad del carbocatión mentilo

La formación de los monoterpenos cíclicos está catalizada por las *terpenociclasas* y también procede mediante la formación de carbocationes. El carbocatión puede reaccionar con nucleófilos (especialmente agua), perder un protón, ciclarse o experimentar transposiciones de Wagner-Meerwein (W-M) (ver Tema 5, apartado 5.4). La figura 8.8 muestra las distintas posibilidades para el catión de tipo mentano:

— por reacción con agua se forma el α-terpinenol (ver mecanismo en el Tema 5, apartado 5.2.2);
— la desprotonación conduce al limoneno;
— un desplazamiento de hidruro 1,3 da lugar a un catión alílico estabilizado por resonancia (catión felandrilo) que por pérdida de un protón conduce a α- y β-felandrenos;
— y, finalmente, un desplazamiento de hidruro 1,2 convierte al catión mentilo en el catión 4-terpinenilo lo que permite la formación de α- y γ-terpinenos y si la transposición es seguida de ataque nucleófilo por una molécula de agua se obtiene el 4-terpinenol.

Los monoterpenos bicíclicos también derivan del catión mentilo por plegamiento de la cadena lateral hacia el doble enlace lo que permite repetir el mecanismo de ciclación y obtener los cationes bicíclicos pinilo y bornilo (Figura 8.9).

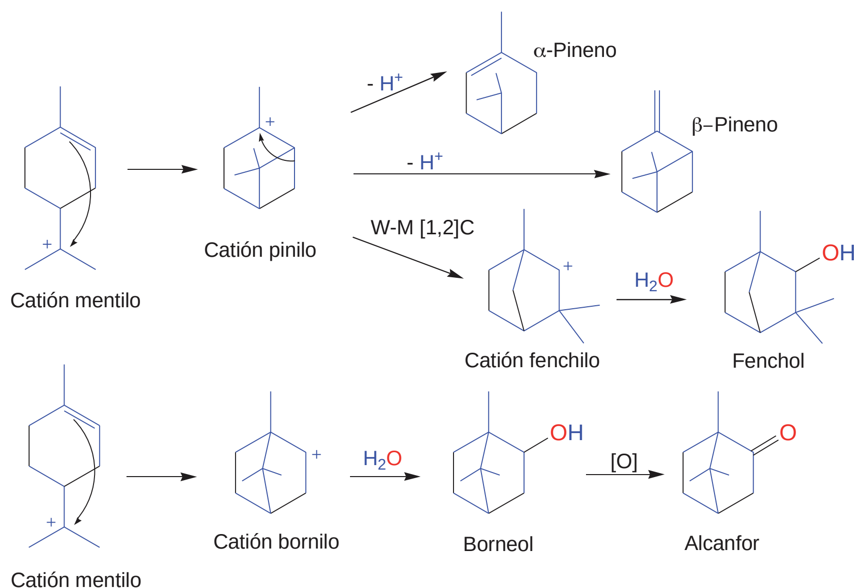


Figura 8.9. Formación de monoterpenos bicíclicos

El carbocatión pinilo puede deshidrogenarse para dar α- y β-pinenos o puede experimentar una transposición de Wagner-Meerwein de alquilo (W-M [1,2]C) para formar el catión fenchilo. Esta transformación de carbocatión terciario a secundario no está del todo desfavorecida ya el catión formado de cinco miembros está menos impedido. El catión bornilo puede reaccionar con agua para obtener el borneol y la oxidación del alcohol conduce a la cetona alcanfor.

Aunque no se ha prestado atención a la estereoquímica, es importante resaltar que la mayoría de estos compuestos son ópticamente activos y son, los sistemas enzimáticos presentes en un organismo particular los que controlan y definen la estereoquímica del producto final.

8.5. SESQUITERPENOS (C_{15})

La adición de IPP al pirofosfato de geranilo (GPP) conduce al precursor clave de los sesquiterpenos, el pirofosfato de farnesilo (FPP) (Figura 8.10). La reacción transcurre de modo análogo al visto en la formación del GPP (ver Figura 8.6). Así pues, las etapas son: ionización inicial del GPP, adición al IPP y pérdida estereoespecífica del protón.

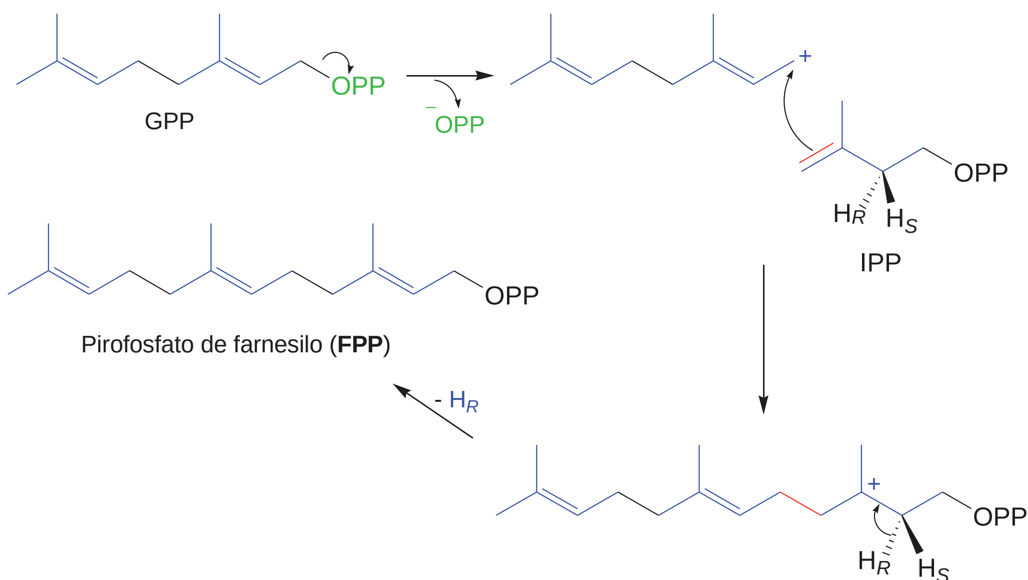


Figura 8.10. Formación del pirofosfato de farnesilo (FPP)

La estereoquímica del doble enlace más cercano al grupo pirofosfato, que puede ser *E* o *Z* (a través de una ionización) (Figura 8.11), permite diferentes posibilidades de plegamiento de la cadena, lo cual a su vez depende de la enzima que actúa. La existencia de un tercer doble enlace y una mayor flexibilidad de la cadena hidrocarbonada incrementa el número de posibles ciclaciones y modificaciones secundarias, lo que se manifiesta en la gran cantidad de sesquiterpenos aislados.

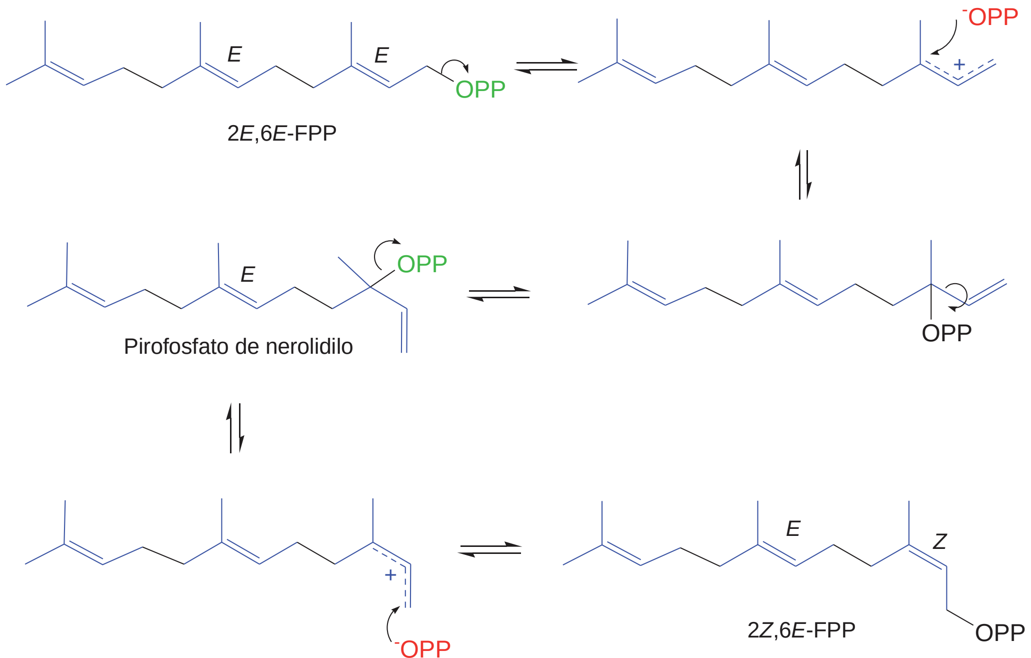


Figura 8.11. Isómeros del FPP

El FPP puede dar sesquiterpenos lineales y cíclicos. En la Figura 8.12 se muestran algunos compuestos representativos como, por ejemplo, el farnesol, formado por hidrólisis del FPP, el nerolidol que se obtiene a través del pirofosfato de nerolidilo y los sesquiterpenos cíclicos: óxido de bisabolol A, aceite esencial presente en la manzanilla; el cingibereno, presente en los componentes destilados de las raíces secas de jengibre; y el pachulol, principal constituyente de la esencia de pachulí.

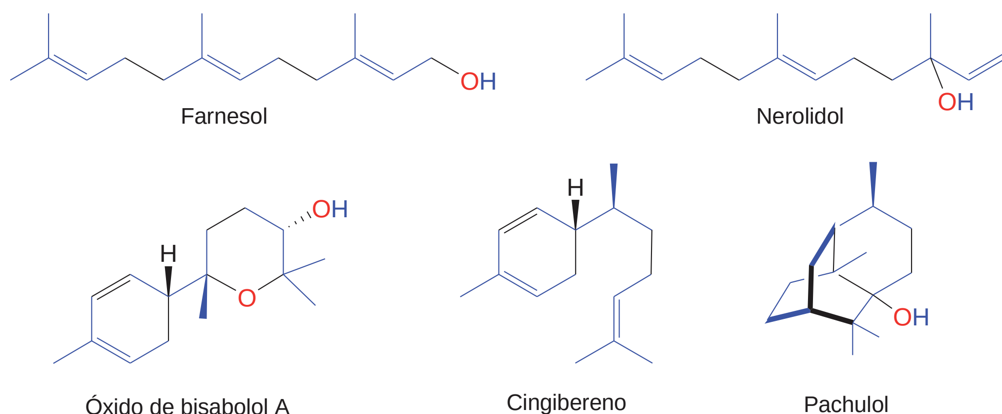


Figura 8.12. Algunos sesquiterpenos

8.6. DITERPENOS (C_{20}) Y SESTERTERPENOS (C_{25})

Los diterpenos (C_{20}) no son tan numerosos en la naturaleza como los grupos vistos anteriormente, pero aun así, son bastante abundantes sobre todo en el mundo vegetal aunque también existen en el mundo animal.

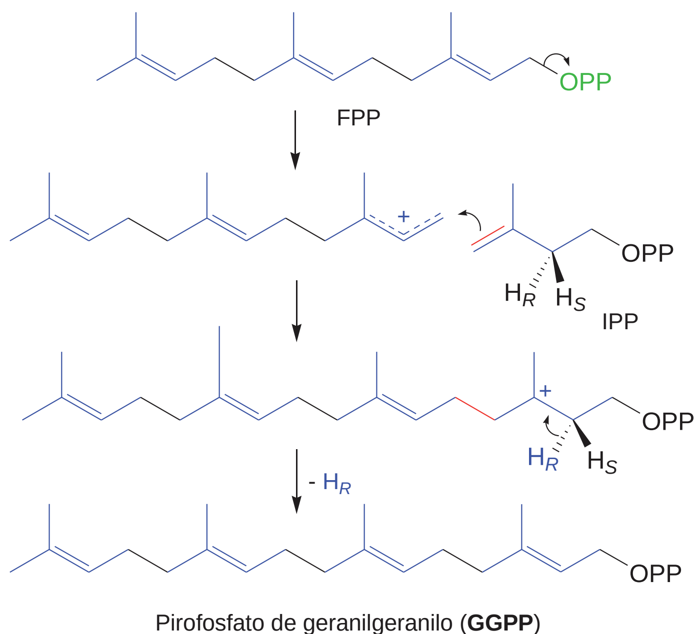


Figura 8.13. Formación del pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP)

El precursor clave es el pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP) que se obtiene por adición de una molécula de IPP al pirofosfato de farnesilo (Figura 8.13). Como en los casos anteriores, el mecanismo procede a través de la formación de carbocationes que se generan por la heterólisis del enlace C-O del pirofosfato en algunos casos, pero también es posible protonar un doble enlace para producir un centro electrófilo, lo cual es más común en este caso debido a la presencia de varios dobles enlaces en sus precursores.

En la Figura 8.14 se muestran algunos de estos compuestos: el fitol, diterpeno lineal de gran importancia que forma la cadena lipófila de la clorofila; la vitamina A, diterpeno monocíclico muy relevante; y el ácido abiético, diterpeno bicíclico que es el componente principal de las resinas de muchas coníferas.

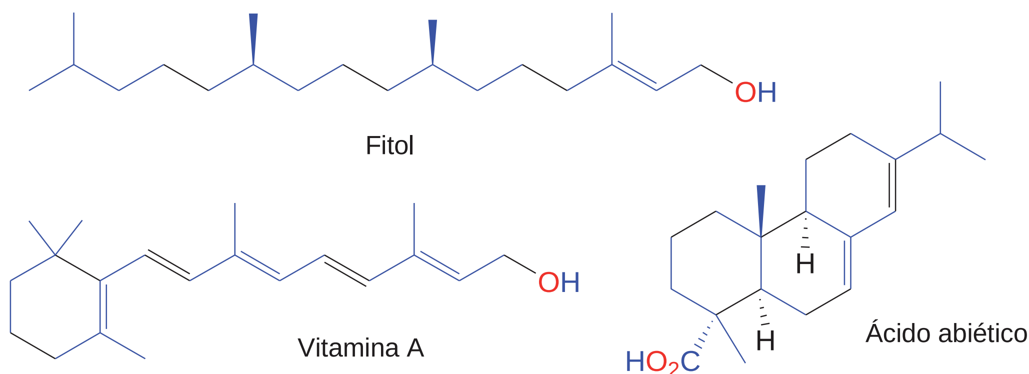


Figura 8.14. Algunos diterpenos

Los sesterterpenos (C_{25}) contienen 5 unidades de isopreno y son los menos numerosos en la naturaleza. Se han aislado de esponjas marinas, hongos y de algunos insectos. Su precursor biogenético es el pirofosfato de geranilfarnesilo (GFPP) que se obtiene por condensación de una molécula de GGPP y una de IPP del mismo modo que hemos ido viendo a lo largo del tema.

Un ejemplo de sesterterpeno cíclico es la ofiobolina A aislada de un hongo. En la Figura 8.15 se muestra su formación que ocurre a través de una serie de ciclaciones concertadas y un desplazamiento 1,5 de hidruro, transposición de Wagner-Meerwein 1,5 no vista hasta ahora.

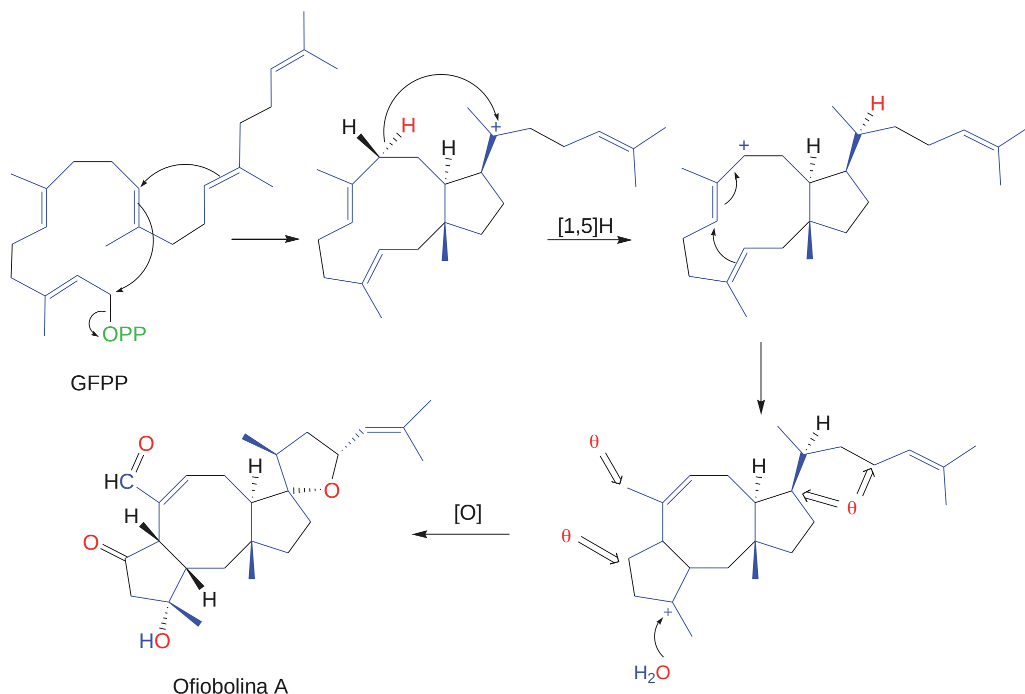


Figura 8.15. Biosíntesis del sesterpeno ofiobolina A

8.7. TRITERPENOS Y ESTEROIDES (C_{30})

Los triterpenos (C_{30}) contienen 6 unidades de isopreno en su esqueleto y constituyen un grupo muy amplio de compuestos naturales. El precursor biogenético es el escualeno que debe su nombre a que se aisló del aceite de hígado de tiburón (en latin *squalo*).

Dos moléculas de pirofosfato de farnesilo (FPP) se acoplan con la geometría *cola-cola* para dar lugar a la molécula precursora, pirofosfato de pre-escualeno, que contiene un anillo de ciclopropano. La pérdida del ion fosfato da lugar a una serie de transposiciones de alquilo que finalmente conducen al escualeno al tomar un ion hidruro de la coenzima NADPH (Figura 8.16).

La ciclación del escualeno da lugar a los triterpenos cíclicos siendo la gran mayoría tetracíclicos o pentacíclicos aunque también se han descritos algunos de tres o menos ciclos. Los terpernos de 30 átomos de carbono constituyen una clase numerosa de compuestos, sin embargo, es más am-

plia la formada por estructuras triterpénicas cuyo número de carbonos difiere de dicho valor, pudiendo ser mayor o menor de 30; la pérdida de carbonos se produce por roturas oxidantes de enlaces carbono-carbono y la ganancia por procesos de alquilación con SAM.

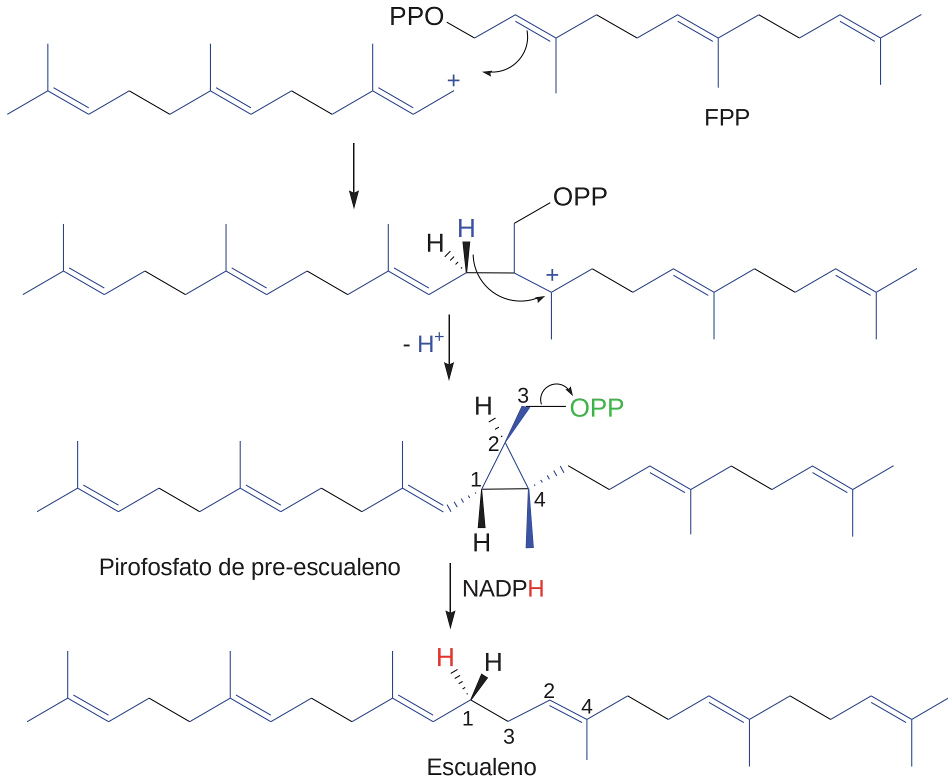
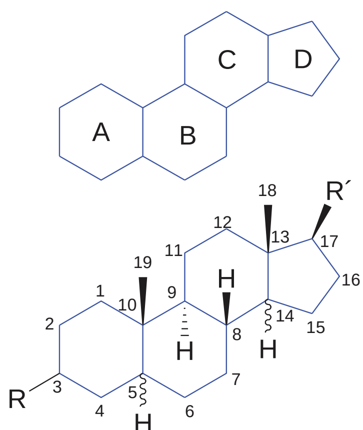


Figura 8.16. Biosíntesis del escualeno

Dentro del grupo de triterpenos cíclicos con menos de 30 átomos de carbono destacan, por su gran importancia química y biológica, los esteroides. Deben su nombre a que los primeros que se describieron eran alcoholes de elevado punto de fusión, de donde procede el nombre esterol (del griego *stereos*, duro, compacto). Forman parte de las membranas celulares ayudando a mantener la integridad estructural y permeabilidad de las mismas.

Estos compuestos se caracterizan, desde el punto de vista estructural, por un sistema de cuatro anillos fusionados, tres anillos de seis y uno de cinco a los que se le asignan las letras A, B, C y D. El sistema puede estar

más o menos hidrogenado y sustituido por dos metilos angulares. Según los sustituyentes R y R´ se clasifican en diferentes subgrupos (Figura 8.17).



Esteroles
R= OH; R´= cadena alquílica

Hormonas sexuales/Corticosteroides
R= OH/O; R´= OH/$COCH_3$/$COCH_2OH$

Saponinas/Glicósidos cardiacos
R= OGli; R´= heterociclo

Figura 8.17. Esqueleto de los esteroides

Los enlaces de fusión entre dos anillos pueden ser *cis o trans*. En la Figura 8.18 se muestran estas fusiones en la decalina. En los esteroides naturales la unión B/C es *trans*, la C/D es casi siempre *trans* y la variación está en la fusión A/B que puede ser *cis* o *trans*. La mayoría de los esteroides derivan del coprostano (A/B *cis*) o del colestano (A/B *trans*) (Figura 8.18).

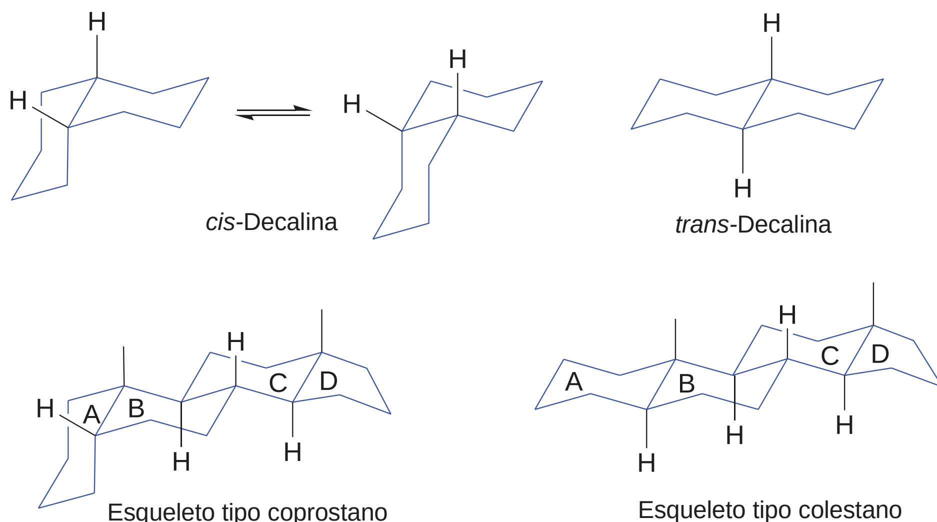


Figura 8.18. Isomería *cis-trans* en la decalina y esqueletos del coprostano y colestano

Al grupo de esteroides pertenecen los siguientes compuestos (algunas de sus estructuras se muestran en la Figura 8.19):

- **Esteroles**. Compuestos que por su aspecto externo son parecidos a las grasas y que aparecen en las partículas lipoides de diferentes órganos animales o vegetales. De acuerdo con su origen natural, se dividen en tres grandes grupos: zoosteroles o esteroles animales; fitosteroles o esteroles vegetales y miosteroles o esteroles de los hongos. Ejemplos: colesterol, ergosterol, fucosterol.
- **Hormonas sexuales de mamíferos**. Son productos resultantes del metabolismo del colesterol, se pueden clasificar en tres grupos: estrógenos, andrógenos y progestógenos. Los dos primeros gobiernan los caracteres primarios de los sexos femenino y masculino y el tercer tipo regula diversas funciones del ciclo reproductor de la hembra. Ejemplos: estrona, androsterona, progesterona.
- **Corticosteroides**. Son hormonas esteroídicas que se producen en la corteza de las cápsulas suprarrenales. Desempeñan un papel muy importante en el metabolismo de carbohidratos. Ejemplos: cortisol, cortisona.
- **Saponinas**. Son un grupo de glicósidos distribuidos en diferentes familias de plantas y que presentan propiedades tensioactivas por lo que las hojas de las plantas que contiene estos compuestos se han utilizado como jabones naturales. Una de las más importantes es la diosgenina.
- **Glicósidos cardiacos.** Comprenden una familia de esteroides C_{23} o C_{24} unidos a un azúcar. Se producen en plantas de climas templados y tropicales así como en las secreciones de la piel de ciertas ranas y sapos. Son altamente tóxicos debido a su acción sobre el músculo cardiaco. Ejemplo: digitoxina.
- **Ácidos biliares**. Son esteroles C_{24} que se producen en el hígado a partir del colesterol. Estos compuestos forman las sales de la bilis por unión peptídica con los grupos amino de la glicina o la taurina. Ejemplo: ácido cólico en forma de glicocolato sódico.

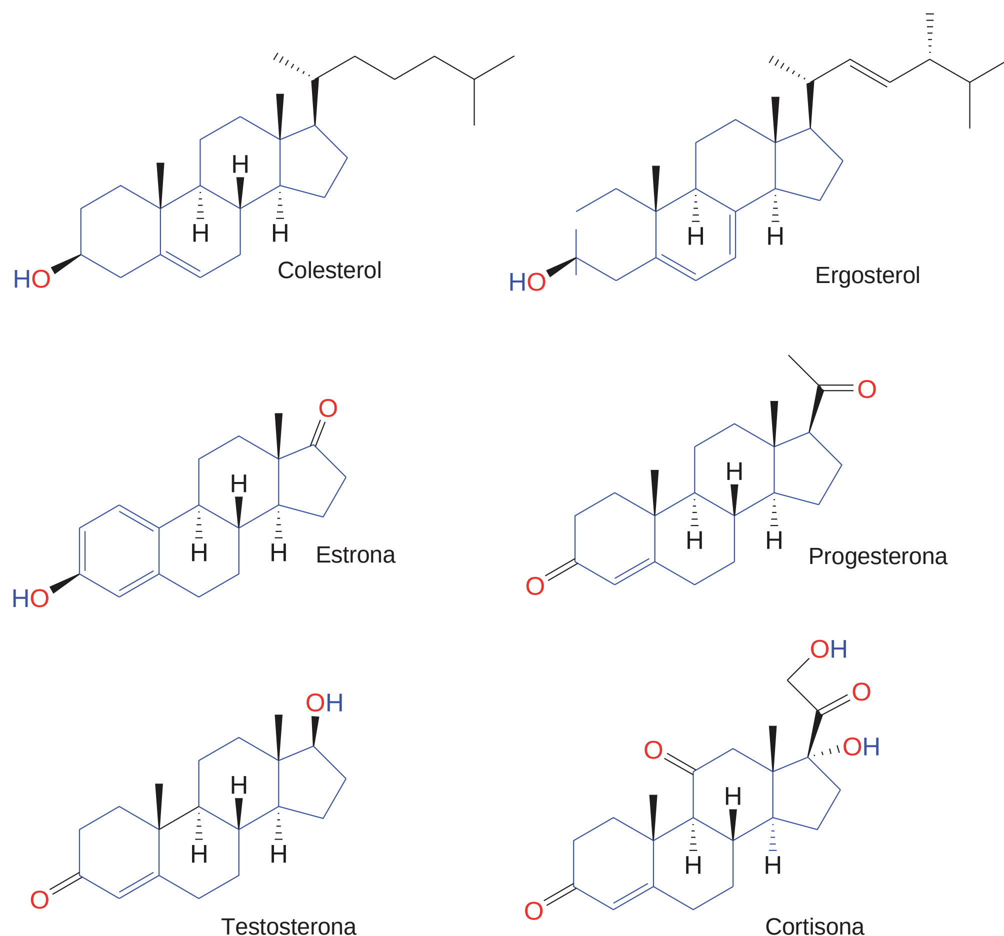


Figura 8.19. Estructuras de algunos esteroides

La formación de los esteroides a partir del escualeno se pueden racionalizar teniendo en cuenta la facilidad que presenta este compuesto para plegarse y adaptarse a la superficie de una enzima y cumplir los criterios estereoelectrónicos necesarios para que tenga lugar la ciclación. El primer paso consiste en la formación de un epóxido en un extremo de la cadena para dar el óxido de escualeno y la reacción continúa con una reacción en cascada de los electrones π de los dobles enlaces, seguida de una serie de transposiciones 1,2 tanto de hidruro como de metilo. En la Figura 8.20 se muestra la biosíntesis del lanosterol, componente de la lanonina presente en la grasa de la lana de las ovejas.

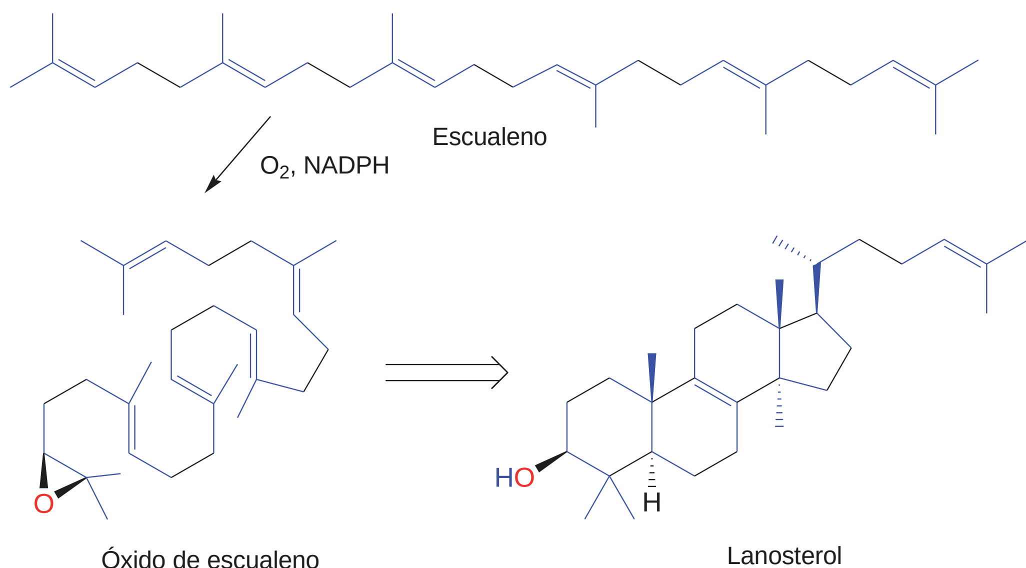


Figura 8.20. Biosíntesis del lanosterol a partir del escualeno

A pesar de los continuos estudios realizados en el campo de los esteroides, las rutas biosintéticas presentan aún algunos interrogantes y muchas secuencias de reacción no se conocen en profundidad y presentan características particulares de unos organismos a otros.

8.8 TETRATERPENOS O CAROTENOIDES (C_{40}) Y POLITERPENOS (> C_{40})

Los tetraterpenos son terpenos con 40 átomos de carbono (C_{40}) y en su mayoría son compuestos poliolefínicos lineales con dobles enlaces conjugados con configuración *trans* y se conocen con el nombre de carotenoides. Se encuentran en la mayoría de las plantas verdes y también en algunas algas, bacterias y hongos. Estos compuestos actúan como pigmentos auxiliares en la fotosíntesis y quizás el más importante de todos sea el β-caroteno, pigmento de color naranja que da el color a las zanahorias.

La ruta biosíntética de los carotenoides comienza por la condensación de dos moléculas de GGPP (*cola-cola*) y la reacción transcurre de manera análoga a la formación del escualeno, a través de un intermedio cíclico (ver Figura 8.16) con la única diferencia de que en la última etapa se pier-

de un protón para dar lugar a un doble enlace central, que puede ser *cis* o *trans*. Este precursor no puede plegarse, al contrario que en el escualeno, por lo que solo se obtienen estructuras lineales (Figura 8.21).

El fitoeno puede deshidrogenarse (proceso que ocurre en la maduración de las frutas), aumentando así la conjugación entre los dobles enlaces. Por ello, muchos de los carotenos absorben luz visible originando compuestos de color amarillo y rojo, como el licopeno presente en el tomate. El licopeno tiene en su estructura dos extremos no conjugados que por ciclación dan lugar al β-caroteno, compuesto ampliamente distribuido en las plantas superiores. La rotura oxidativa del enlace C-C central conduce al diterpeno retinal que por reducción con NADH da lugar a un precursor de la vitamina A, el retinol (Figura 8.21).

Los carotenoides se utilizan como colorantes en la alimentación y actúan como captadores de radicales libres siendo, por lo tanto, compuestos antioxidantes de gran importancia.

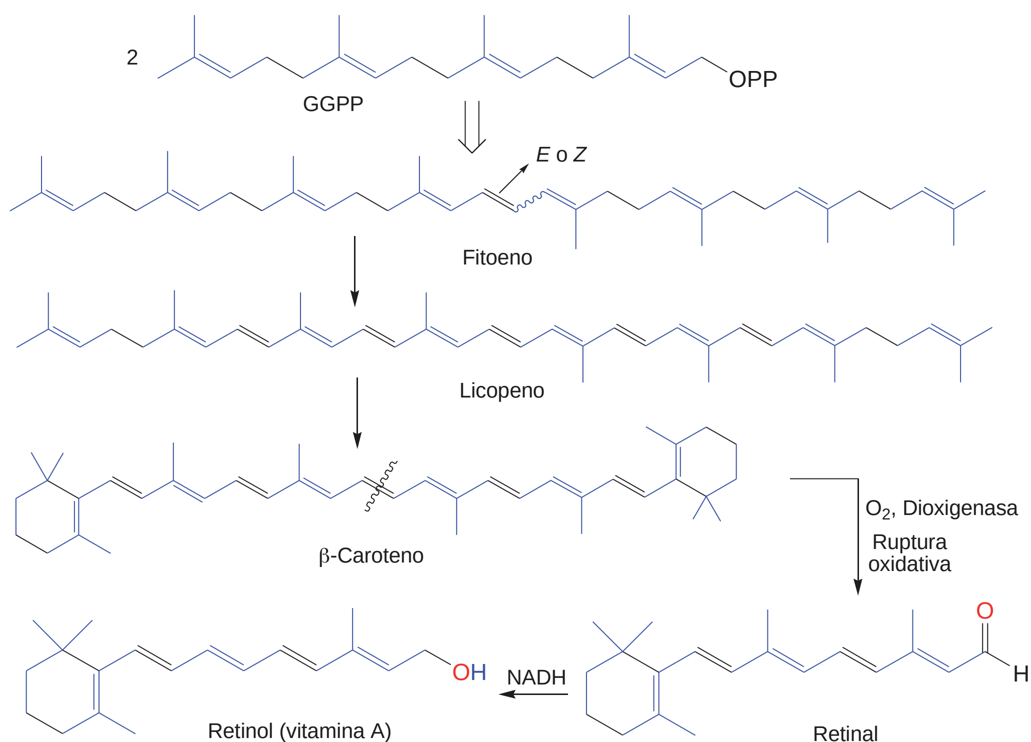


Figura 8.21. Carotenoides (C_{40}) y diterpenos (C_{20}) retinal y retinol

Por último, la adición repetida de unidades de IPP a una unidad de GGPP da lugar a los politerpenos (Figura 8.22).

Algunas plantas producen estos polímeros de gran interés comercial. Por ejemplo, en las plantas de las que se extrae el caucho se obtiene un polímero que contiene 10^3-10^5 unidades de isopreno con todos los dobles enlaces en configuración *cis*. Otro polímero similar pero de menor peso molecular y con todos los dobles enlaces *trans* es la gutapercha. La goma de mascar consiste, desde el punto de vista estructural, en una mezcla de estas dos moléculas.

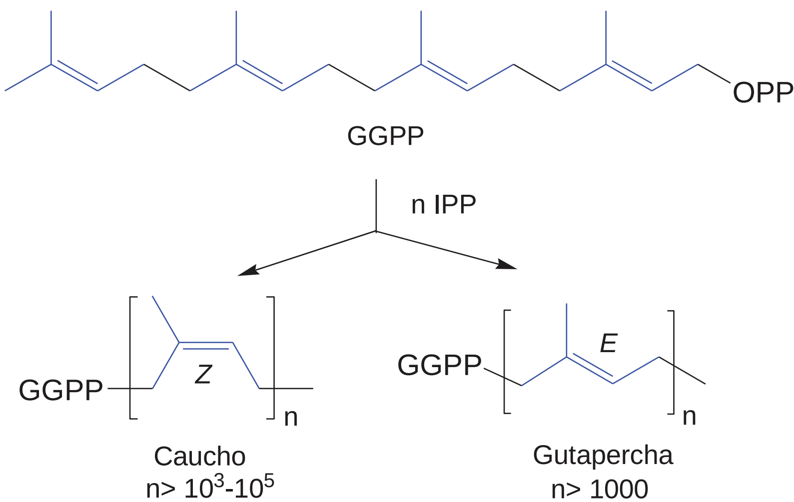


Figura 8.22. Caucho y gutapercha, politerpenos.

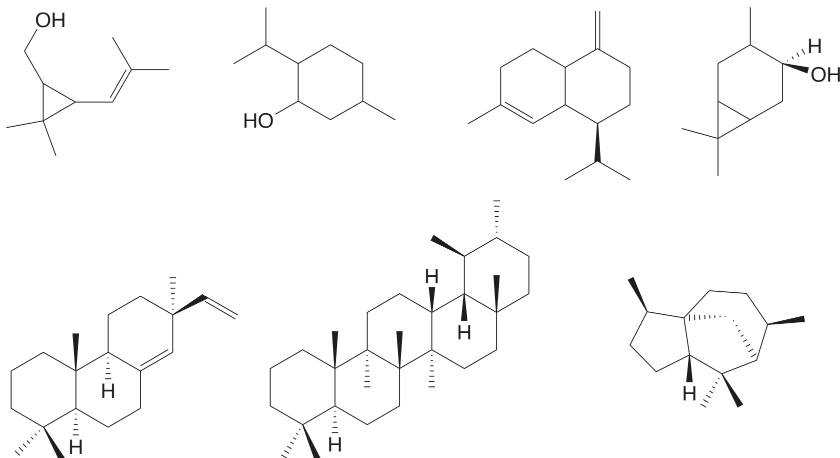
CONCEPTOS CLAVE

1. Los terpenos están constituidos por unidades de isopreno y se clasifican según el número de unidades que contengan en: hemiterpenos, monoterpenos, diterpenos, sesquiterpenos, sesterterpenos, triterpenos, tetraterpenos o carotenoides y politerpenos.
2. Los compuestos de partida para la biosíntesis de los terpenos son los hemiterpenos: pirofosfato de isopentenilo (IPP) y pirofosfato de dimetilalilo (DMAPP).
3. Los hemiterpenos IPP y DMAPP pueden ser sintetizados por dos rutas diferentes: la vía del mevalonato (MVA) y la vía de la 1-desoxi-D-xilulosa-5-fosfato (DXP).
4. Los monoterpenos (C_{10}) contienen 2 unidades de isopreno y su precursor biogenético es el pirofosfato de geranilo (GPP) que se forma por condensación de una molécula de IPP con una de DMAPP.
5. Los sesquiterpenos (C_{15}) contienen 3 unidades de isopreno y su precursor biogenético es el pirofosfato de farnesilo (FPP) que proviene de la condensación de una molécula de GPP y una de IPP.
6. Los diterpenos (C_{20}) contienen 4 unidades de isopreno y su precursor biogenético es el pirofosfato de geranilgeranilo (GGPP), que se forma al condensarse una molécula de FPP con una molécula de IPP.
7. Los sesterterpenos (C_{25}) contienen 5 unidades de isopreno y su precursor biogenético es el pirofosfato de geranilfarnesilo (GFPP) que se obtiene por condensación de una molécula de GGPP y una de IPP.
8. Los triterpenos (C_{30}) contienen 6 unidades isoprenicas (C_{30}) y su precursor biogenético es el escualeno, formado a partir de dos moléculas de pirofosfato de farnesilo.
9. Existe una clase amplia de triterpenos cuyo número de carbonos difiere de 30, pudiendo ser mayor o menor de 30; la pérdida de carbonos se produce por roturas oxidantes de enlaces carbono-carbono y la ganancia por procesos de alquilación con SAM.
10. Los esteroides son triterpenos tetracíclicos. La mayoría de ellos derivan de los esqueletos base de coprostano y colestano.

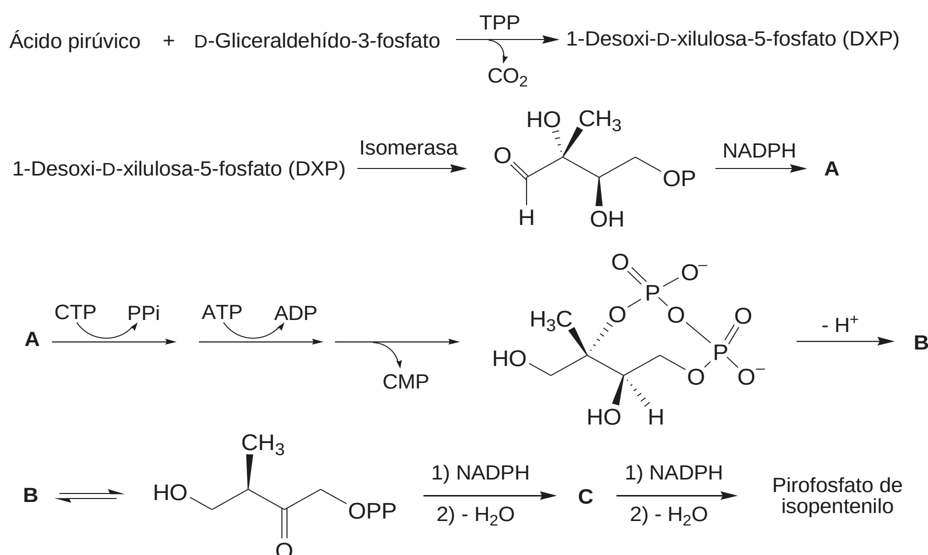
11. Los tetraterpenos (C_{40}) o carotenoides contienen 8 unidades de isopreno, son compuestos lineales polinsaturados y su precursor biogenético es el fitoeno.
12. La adición repetida de unidades de IPP a una unidad de GGPP da lugar a los politerpenos.

EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

1. Señalar, con trazo grueso, las unidades de isopreno presentes en las siguientes estructuras:

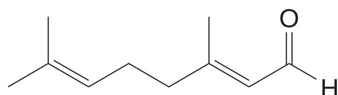


2. Se sabe que el pirofosfato de isopentenilo (IPP) puede ser sintetizado por dos rutas metabólicas independientes: la vía del mevalonato (MVA) y la vía de la 1-desoxi-D-xilulosa-5-fosfato (DXP). Bajo estas líneas se muestra un esquema para la vía DXP. Dibujar las estructuras químicas de los compuestos que se nombran así como la de los productos **A**, **B** y **C**.



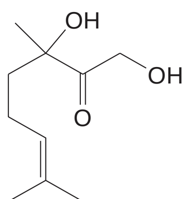
3. Sugerir, partiendo del pirofosfato de geranilo, las reacciones que tienen que tener lugar para una biosíntesis razonable de los siguientes monoterpenos:

a)



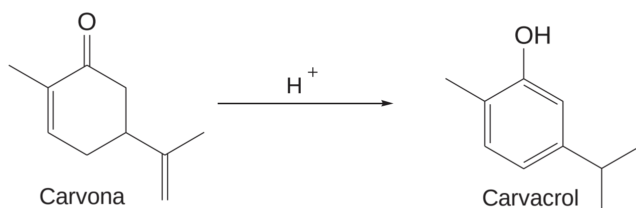
trans-Citral

b)



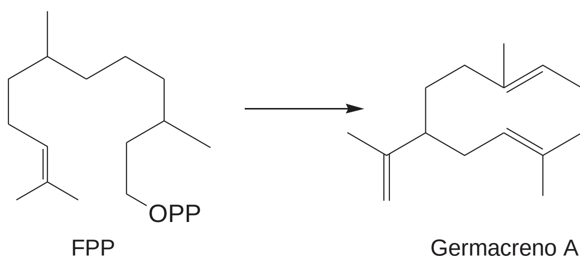
Feromona

4. Proponer un mecanismo, con todos los pasos intermedios, para la transformación catalizada por un ácido de la carvona al carvacrol.

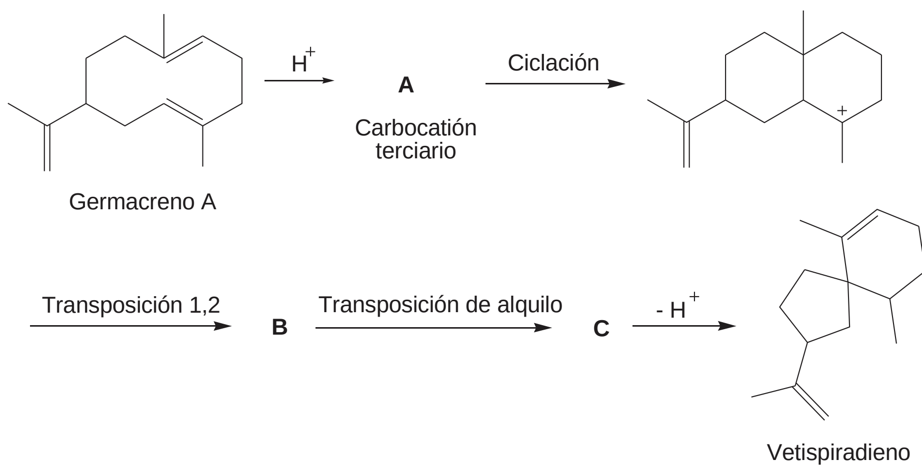


5. Escribir el mecanismo de formación del sesquiterpeno germacreno A a partir del pirofosfato de farnesilo (FPP) y completar el esquema mecanístico a partir del cual el germacreno A se transforma en medio ácido en el sesquiterpeno vetispiradieno.

a)

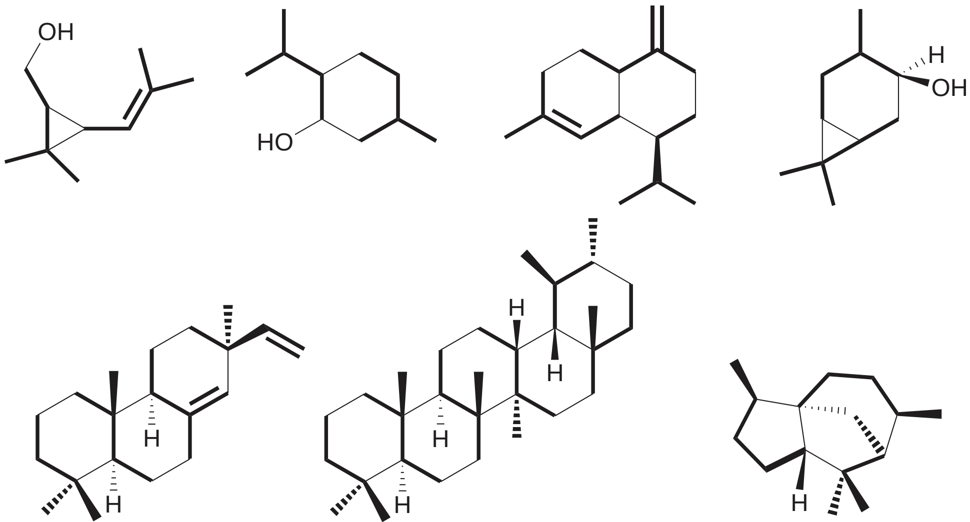


b)

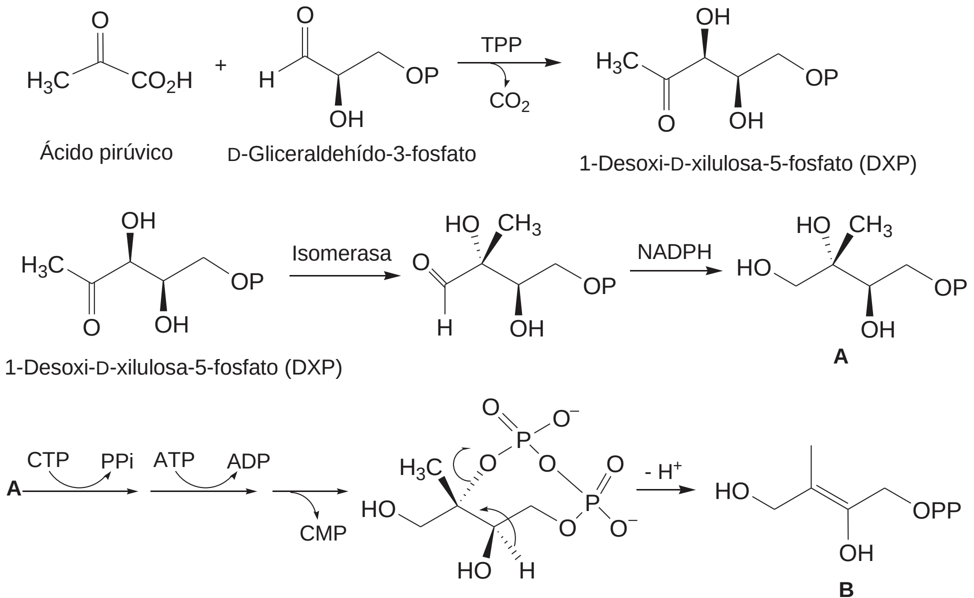

H+
A
Carbocatión
terciario
Ciclación
+
Germacreno A
Transposición 1,2
B
Transposición de alquilo
C
- H+
Vetispiradieno

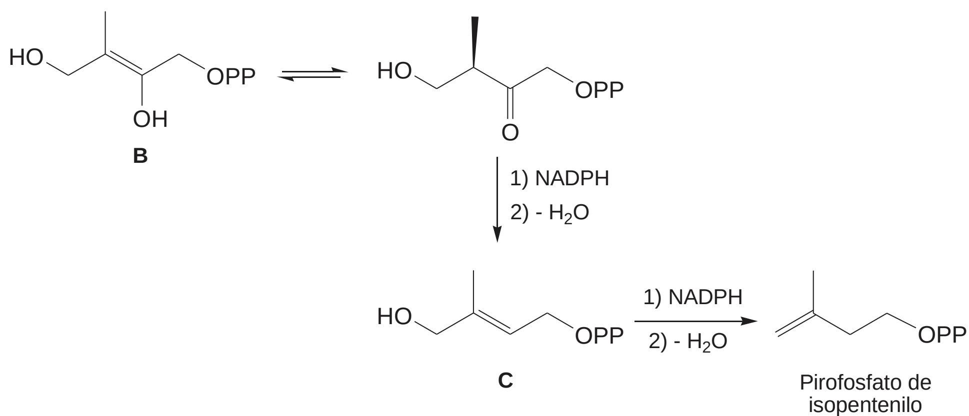
SOLUCIONES A LOS EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

1.

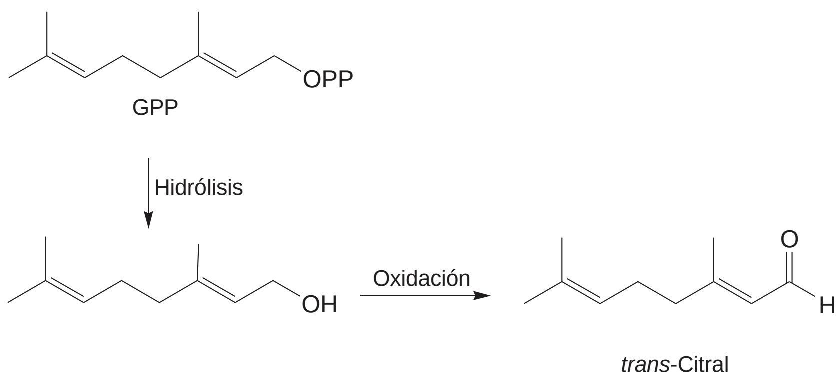


2.

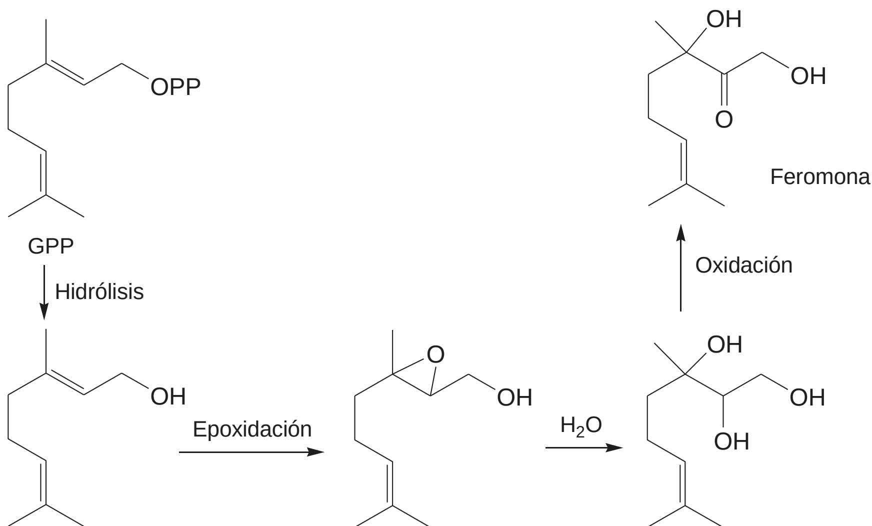



HO
OPP
OH
B
HO
OPP
O
1) NADPH
2) - H_2O
HO
OPP
C
1) NADPH
2) - H_2O
OPP
Pirofosfato de isopentenilo

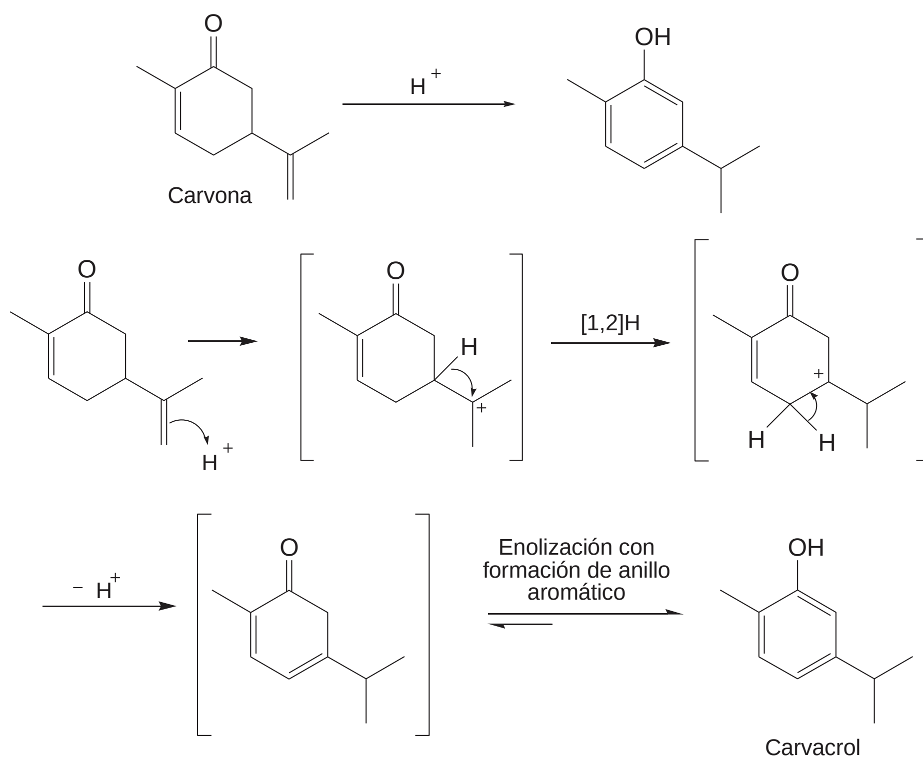
3. **a)**


OPP
GPP
Hidrólisis
OH
Oxidación
O
H
trans-Citral

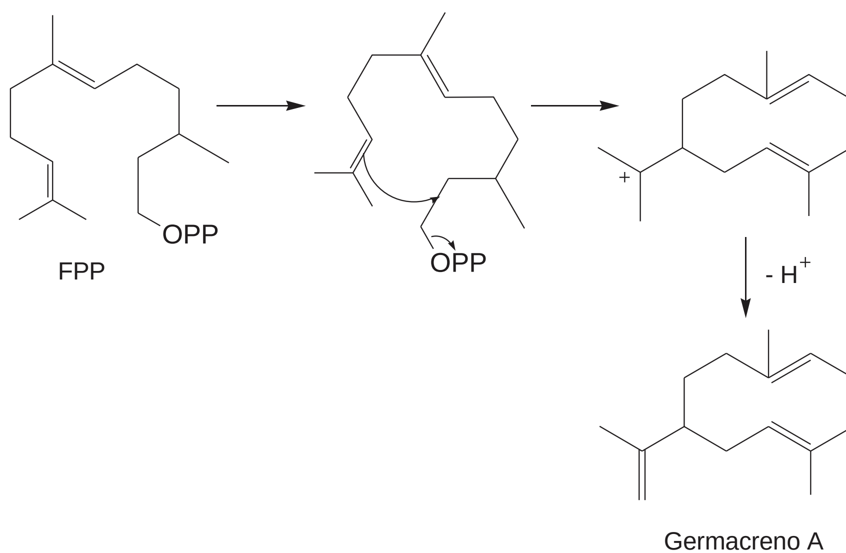
b)


OPP
GPP
Hidrólisis
OH
Epoxidación
O
OH
H_2O
OH
OH
OH
Oxidación
OH
OH
O
Feromona

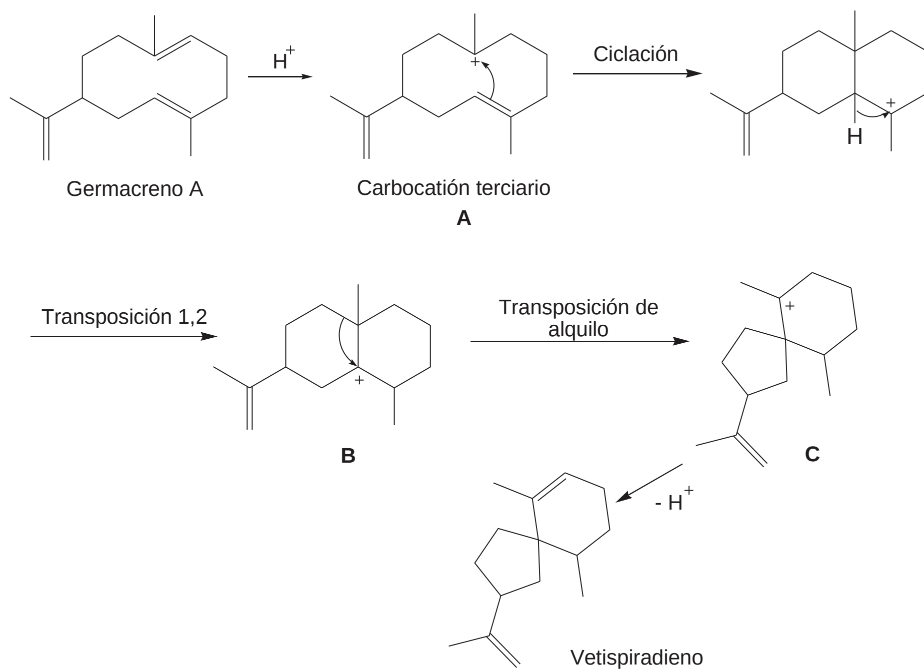
4.


O
Carvona
H^+
OH
O
H +
O
H
+
[1,2]H
O
+
H
H
− H+
O
Enolización con
formación de anillo
aromático
OH
Carvacrol

5. **a)**


FPP
OPP
OPP
+
- H+
Germacreno A

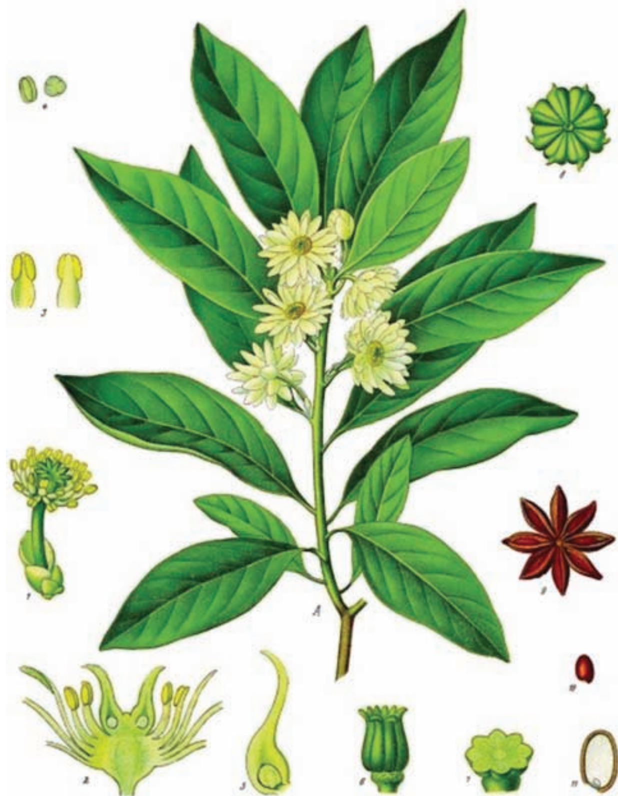
b)


H+
Ciclación
H
Germacreno A
Carbocatión terciario
A
Transposición 1,2
Transposición de alquilo
B
C
- H+
Vetispiradieno

TEMA 9

LA VÍA DEL ÁCIDO SHIKÍMICO

Marta Pérez Torralba



Especie vegetal *Illicium anisatum* (llamada *shikimi-no-ki* en japonés)

SUMARIO

OBJETIVOS

General

Entender cómo a partir del ácido shikímico se forman los aminoácidos aromáticos y desde éstos, otros compuestos aromáticos más complejos.

Específicos

1. Describir y comprender la ruta del ácido shikímico y de algunos de los ácidos aromáticos sencillos.
2. Identificar y distinguir los compuestos aromáticos naturales de origen no policétido.
3. Analizar la formación de los metabolitos de origen biogenético mixto.
4. Indicar el origen natural y las propiedades biológicas principales de los diferentes productos naturales que derivan del ácido shikímico.
5. Conocer el uso farmacológico de los metabolitos objeto de estudio.
6. Nombrar y formular los principales productos que aparecen a lo largo del tema.

9.1. INTRODUCCIÓN

La vía del ácido shikímico es una ruta alternativa para la formación de compuestos aromáticos, entre ellos los aminoácidos fenilalanina (Phe), tirosina (Tyr) y triptófano (Trp) (Figura 9.1). El nombre de este proceso biosintético se debe a que en él interviene el ácido shikímico, aislado de plantas de la especie *Illicium*, que agrupa a algunos ejemplares tóxicos como el *I. religiosum* o *anisatum*. Esta vía es empleada por microorganismos y plantas, pero no por los animales, y ésta es la razón por la que a la fenilalanina y al triptofano se les clasifica como aminoácidos esenciales para los seres humanos (esto es, que solamente pueden obtenerse a partir de la dieta). La tirosina sí es sintetizada por el organismo, pero a partir de la fenilalanina ya ingerida.

La fenilalanina y la tirosina forman la base de los fenilpropanoides, compuestos en los cuales es posible identificar unidades de fenilpropano (C_6C_3 o ArC_3) presentes en una gran variedad de productos (ácido cinámico, cumarinas, lignanos, flavonoides, etc.). El triptófano se encuentra involucrado en la formación de muchos alcaloides (ver Tema 10).

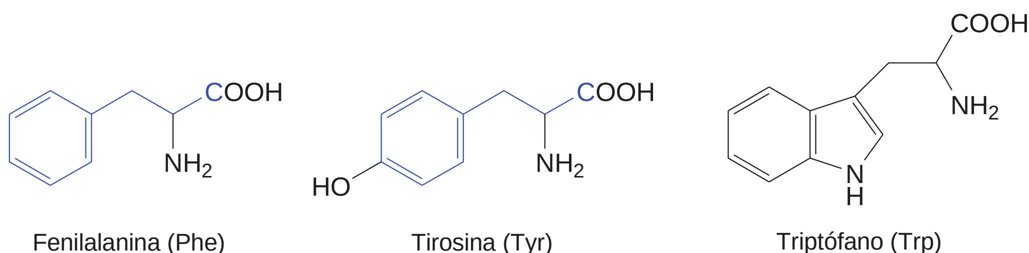


Figura 9.1. Aminoácidos aromáticos

9.2. BIOSÍNTESIS DEL ÁCIDO SHIKÍMICO Y DE COMPUESTOS AROMÁTICOS SENCILLOS

La ruta del ácido shikímico, como se observa en la figura 9.2, se inicia con una condensación entre el fosfoenolpiruvato (PEP) y la D-eritrosa-4-fosfato para generar el ácido de siete carbonos, 3-desoxi-D-arabinoheptulosónico-7-fosfato (DAHP), siendo el proceso catalizado por la enzima *DAHP sintetasa* (DAHPS). A continuación, el DAHP experimenta eliminación de ácido fosfórico, para generar el ácido 4,5,6-trihidroxi-2-oxo-6-heptenoico que mediante una reacción aldólica intramolecular se transforma en ácido 3-deshidroquínico. Éste se reduce mediante NADH a ácido quínico, una sustancia que se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza en su forma libre, como éster, o en combinación con alcaloides como la quinina. El ácido 3-deshidroquínico a su vez puede deshidratarse para transformarse en ácido 3-deshidroshikímico, el cual da lugar al ácido shikímico gracias a una reacción de reducción. El ácido 3-deshidroshikímico no solamente se transforma en el ácido shikímico, sino que también es el precursor de algunos ácidos aromáticos sencillos, tales como el ácido 3,4-dihidroxibenzoico (ácido protocatéquico) y el ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico (ácido gálico), formados a partir de aquél por deshidratación y oxidación, respectivamente, seguidas de enolización. En ambos casos, los procesos están favorecidos debido a la formación de un sistema aromático.

El ácido shikímico se transforma en ácido corísmico mediante la serie de reacciones que se muestran en la figura 9.3. La primera etapa de esta ruta, es la fosforilación del hidroxilo en C-3 del ácido shikímico, por acción de ATP, dando lugar al ácido shikímico-3-fosfato, seguida de una transesterificación del hidroxilo en C-5 con el fosfoenolpiruvato (PEP), incorporando un fragmento tricarbonado (la transesterificación transcurre a través de un mecanismo de adición-eliminación). El producto resultante, ácido 5-enolpiruvilshikímico-3-fosfato, experimenta una eliminación 1,4 de ácido fosfórico, para dar lugar al ácido corísmico.

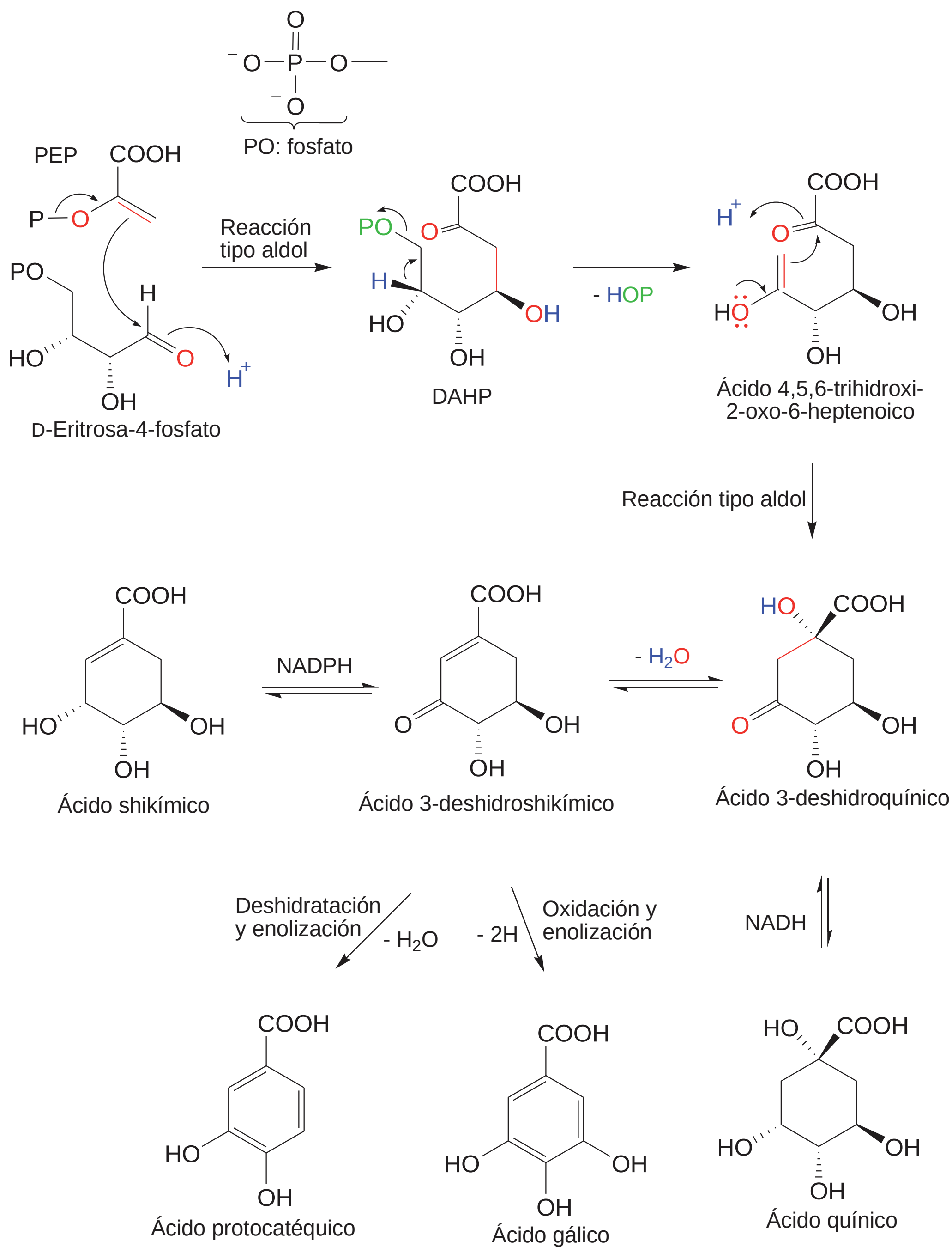


Figura 9.2. Biosíntesis del ácido shikímico y algunos ácidos aromáticos sencillos

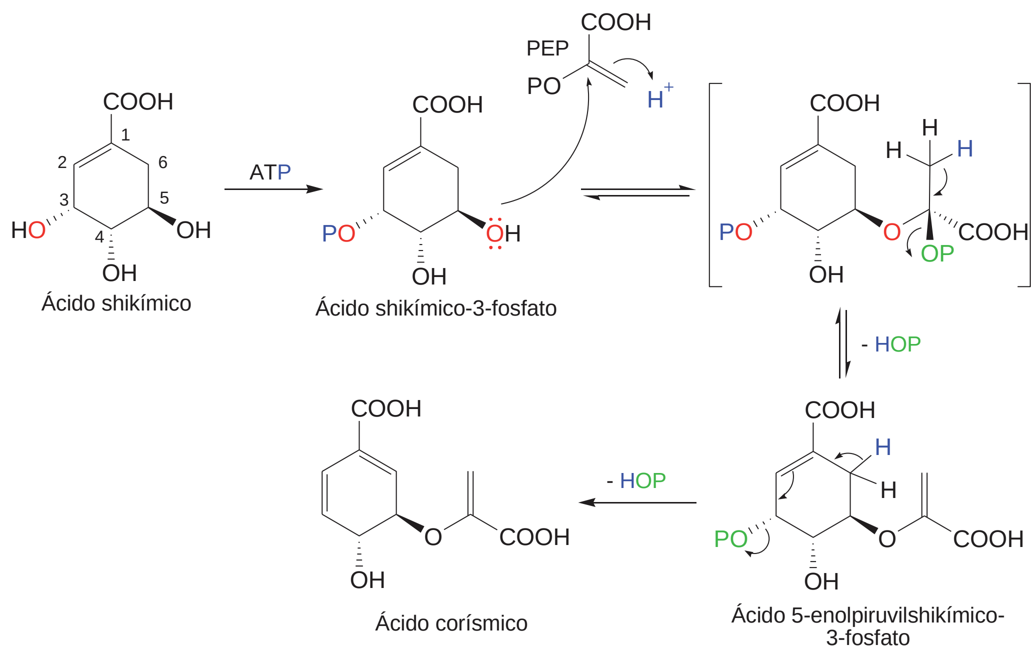


Figura 9.3. Biosíntesis del ácido corísmico

El ácido corísmico es el percursor, entre muchos otros sustratos, de los aminoácidos fenilalanina y tirosina. Como se muestra en la Figura 9.4, una transposición sigmatrópica [3,3] catalizada por la enzima *corismato mutasa* transforma el ácido corísmico en ácido prefénico, siendo éste el precursor directo de los dos aminoácidos aromáticos. En el caso de la L-Phe, se produce una deshidratación/descarboxilación para dar lugar al ácido fenilpirúvico y en el de la L-Tyr, por descarboxilación oxidante se obtiene el ácido *p*-hidroxifenilpirúvico. Posteriormente, a partir de un proceso de transaminación se obtienen los dos aminoácidos. Una vía alternativa para la obtención de la tirosina, tiene lugar a través de la aminación reductora de ácido prefénico para dar ácido L-arogénico, que se transforma en el aminoácido por descarboxilación y aromatización.

En plantas y microorganismos, la fenilalanina y la tirosina se sintetizan normalmente, como se muestra en la Figura 9.4. Sin embargo, en los animales se produce la hidroxilación directa de fenilalanina a tirosina, por eso, la fenilalanina es un aminoácido esencial. Esta reacción está catalizada por enzimas hidrolasas que contienen la tetrahidrobiopterina (BH_4) como coenzima.

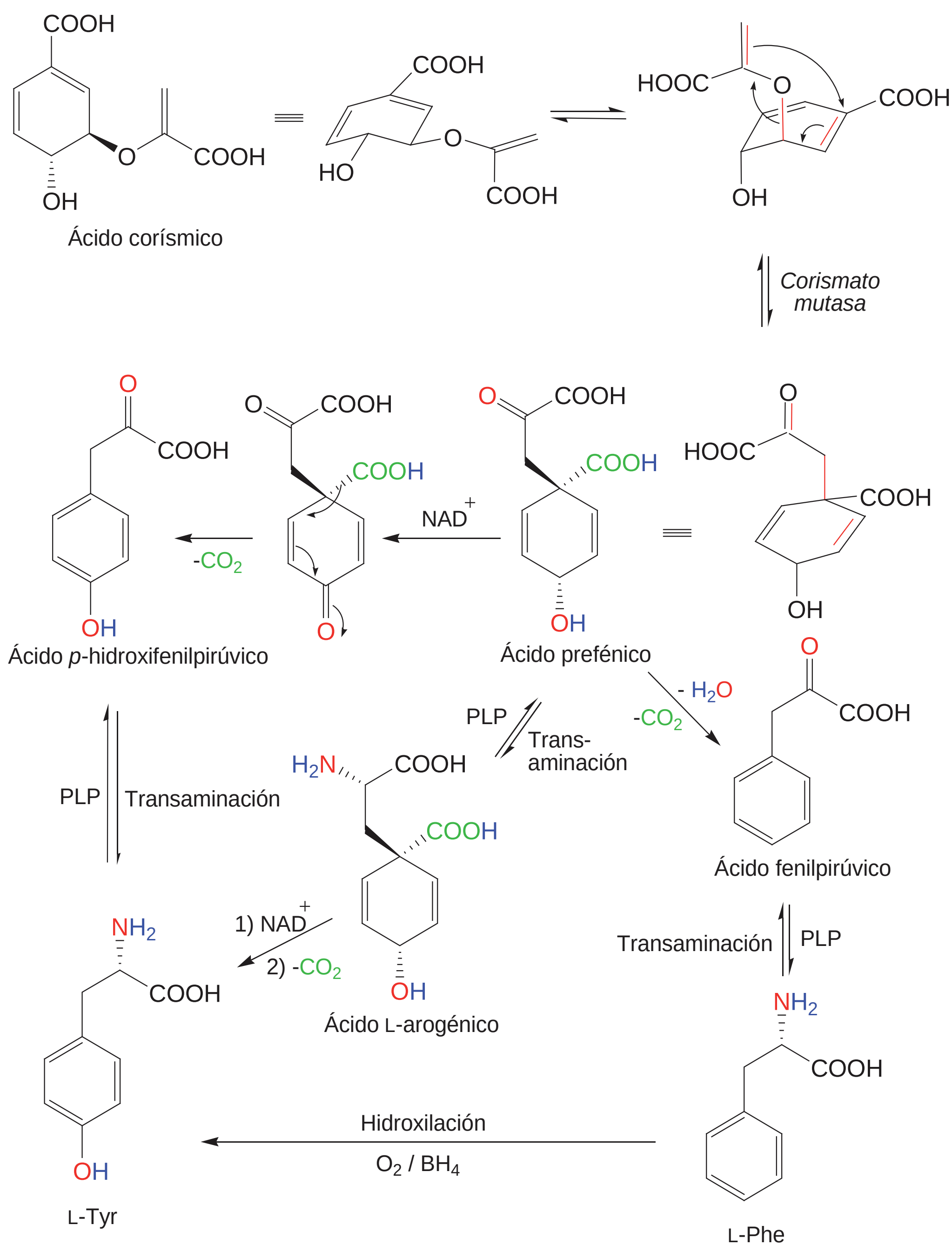


Figura 9.4. Biosíntesis de los aminoácidos aromáticos L-Phe y L-Tyr

El ácido corísmico y su isómero, el ácido isocorísmico, son los precursores de los ácidos aromáticos sencillos que presentan grupos hidroxilo o amino en el anillo bencénico (Figura 9.5). Entre ellos se encuentra el ácido *o*-aminobenzoico (ácido antranílico) que es el precursor principal del triptófano.

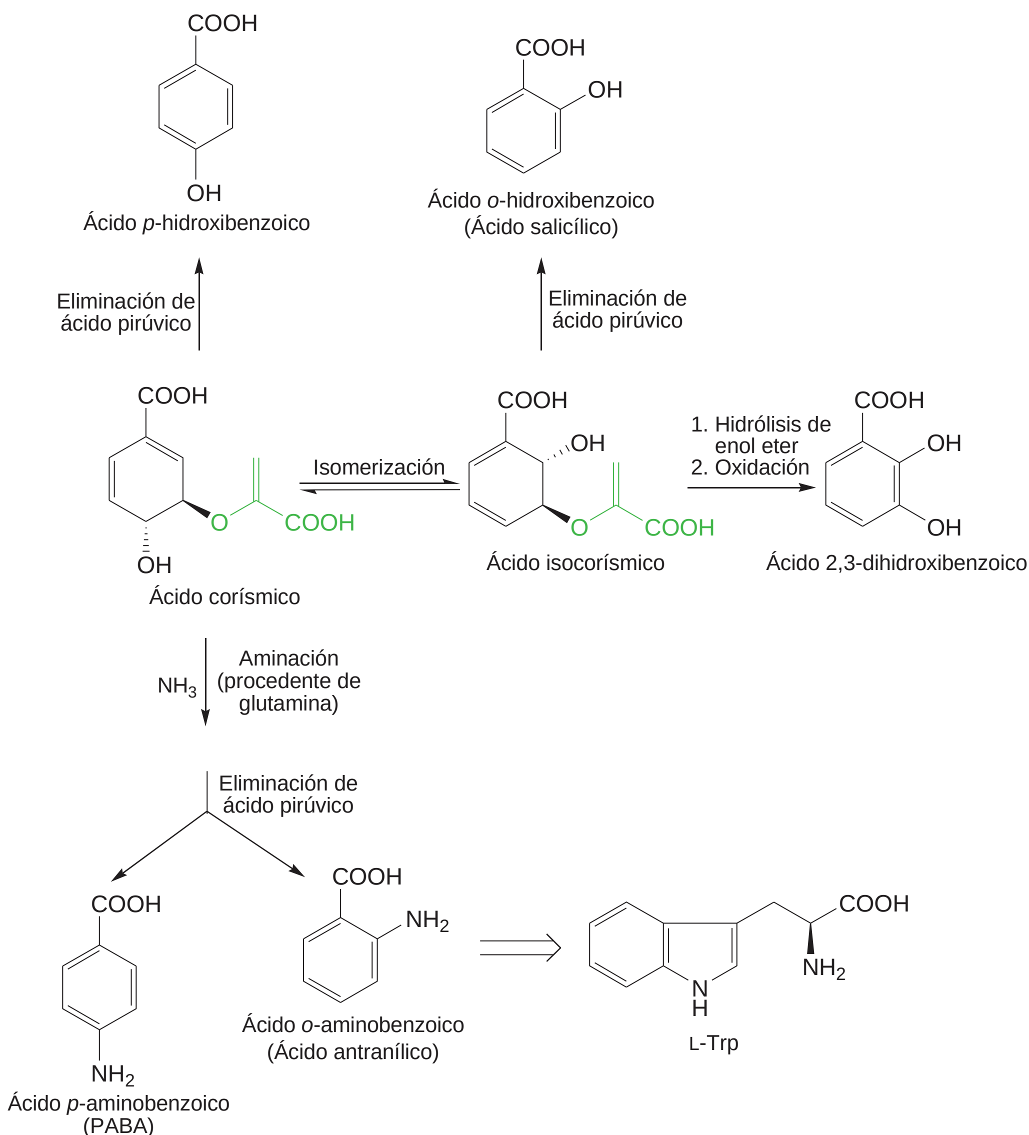


Figura 9.5. Síntesis de compuestos aromáticos a partir de los ácidos corísmico e isocorísmico

9.3. BIOSÍNTESIS DE LOS ÁCIDOS CINÁMICOS

Los ácidos cinámico y *p*-cumárico, así como sus derivados, son compuestos fenólicos sencillos llamados fenilpropanoides por contener un anillo de benceno (C6) y una cadena lateral de tres carbonos.

La ruta principal para la producción de estos compuestos a partir de los aminoácidos fenilalanina y tirosina, se reveló cuando se encontró que los tejidos vegetales contienen sistemas enzimáticos capaces de catalizar la eliminación de amoniaco de estos aminoácidos (Figura 9.6).

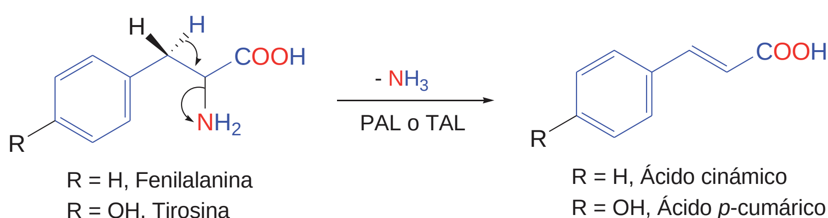


Figura 9.6. Síntesis de los ácidos cinámico y *p*-cumárico

Las evidencias experimentales muestran al parecer que todas las plantas pueden desaminar la fenilalanina por medio de la enzima *fenilalanina amoniaco liasa* (PAL), sin embargo, la desaminación de tirosina por la *tirosina amoniaco liasa* (TAL), parece estar más restringida a ciertas gramíneas. Aquellos organismos que no pueden desaminar la tirosina, obtienen el ácido *p*-cumárico por hidroxilación del ácido cinámico.

Los ácidos cinámico y *p*-cumárico son precursores biosintéticos de una gran variedad de metabolitos como se muestra en la Figura 9.7. A partir del ácido cinámico por reacciones sucesivas de hidroxilación y metilación en el anillo aromático, se obtienen los ácidos *p*-cumárico, cafeico, ferúlico, 5-hidroxiferúlico y sinapínico. Las reacciones de oxidación-reducción son muy comunes en biosíntesis y constituyen etapas claves en muchos esquemas biosintéticos. Los alcoholes que se obtienen a partir de algunos de estos ácidos, son los precursores monómeros que utilizan las plantas para la biosíntesis de los lignanos, por ejemplo en alcohol coniferílico en las coníferas.

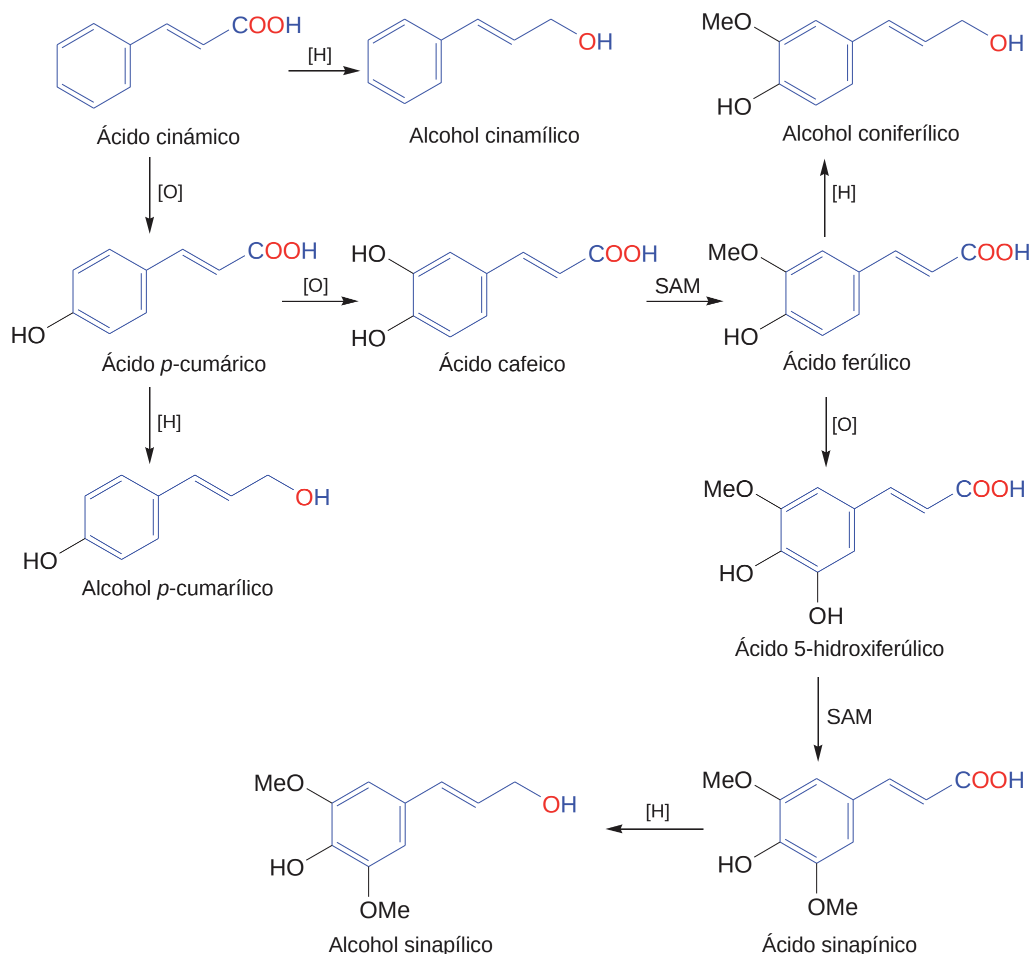


Figura 9.7. Biosíntesis de compuestos C_6C_3 a partir de los ácidos cinámico y *p*-cumárico

9.4. LIGNANOS Y LIGNINA

Los lignanos son productos naturales que derivan de la dimerización de arilpropenoles. La mayoría se encuentran es estado libre en el tejido leñoso, aunque también se han aislado de otras partes de la planta (raíces, hojas y flores). Se forman por acoplamiento oxidativo de alcoholes C_6C_3, como los alcoholes cumarílico, coniferílico y sinapílico. Los acoplamientos transcurren al parecer con completa estereoselectividad, pues los ligna-

nos se aíslan en forma ópticamente activa. Un ejemplo representativo es el (+)-pinoresinol, que se ha aislado de la resina de pinos y se obtiene a partir del alcohol coniferílico por acoplamiento radicalario a través de los carbonos centrales de la cadena lateral (Figura 9.8).

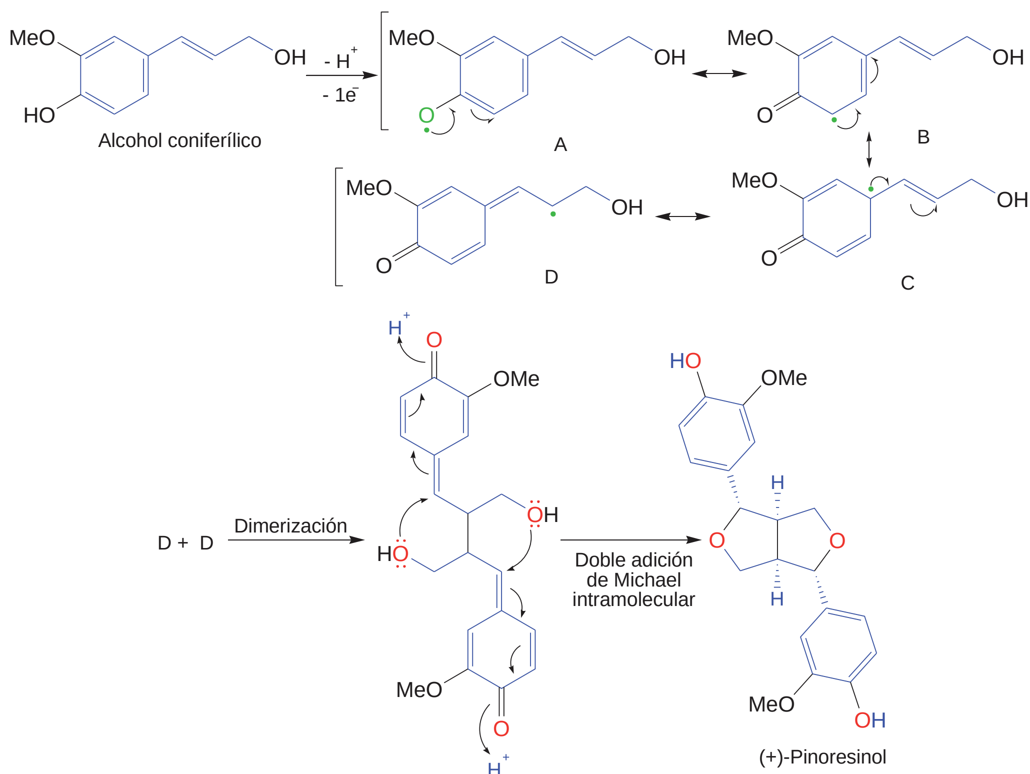


Figura 9.8. Biosíntesis de lignano $(C_6C_3)_2$: (+)-pinoresinol

Algunos lignanos poseen interesantes propiedades biológicas que los hacen útiles en diferentes campos como son, la actividad antitumoral, antivírica o insecticida, entre otras. Un ejemplo es la podofilotoxina que se muestra en la Figura 9.9, que deriva biosintéticamente de (+)-pinoresinol y está presente en las raíces de *Podophyllum*. Este compuesto presenta actividad citotóxica y anticancerígena.

Un polímero altamente ramificado de fenilpropanoides y de gran importancia en los vegetales, es la lignina, que proporciona fuerza y rigidez estructural a la pared celular de las plantas. Es insoluble en agua y en la

mayoría de los disolventes orgánicos lo que hace muy difícil su extracción sin degradarla.

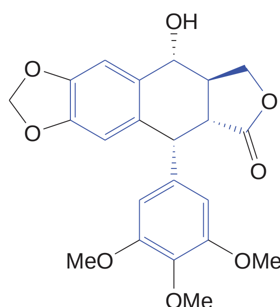


Figura 9.9. Lignano de interés farmacológico: podofilotoxina

Las especies monómeras que se utilizan en el proceso de polimerización para la formación de la lignina están constituidas predominantemente por los alcoholes cumarílico, coniferílico y sinapílico. La lignina que es ópticamente inactiva, es el polímero natural más complejo en relación a su estructura y heterogeneidad, no siendo posible describir una estructura definida para la misma. En la Figura 9.10, se muestra un fragmento hipotético de su estructura.

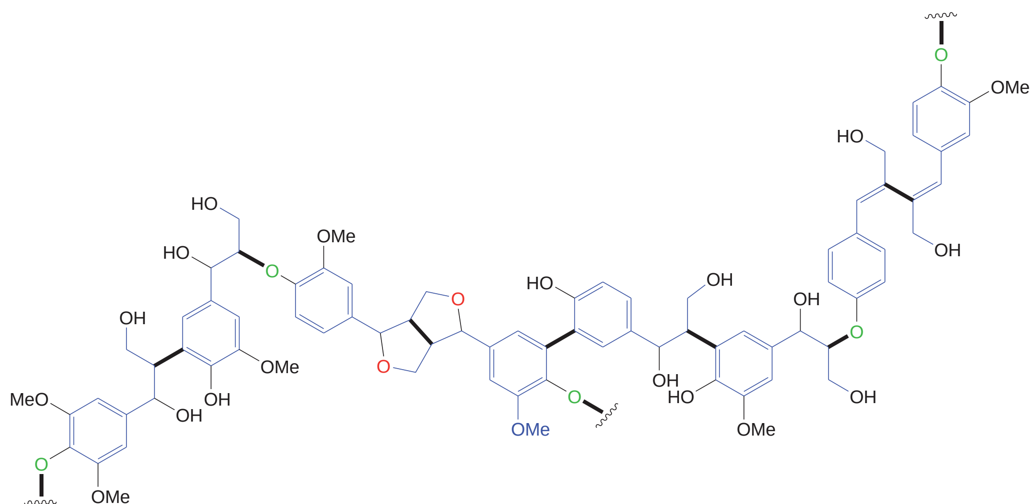


Figura 9.10. Fragmento hipotético de la estructura de la lignina. Los trazos gruesos representan los enlaces C-C o C-O formados en los acoplamientos de tipo radicalario

9.5. CUMARINAS

Las cumarinas constituyen los metabolitos C_6C_3 más característicos y están ampliamente distribuidas entre los vegetales, pudiendo también hallarse en hongos y bacterias. En plantas, se encuentran en los tegumentos de las semillas, frutos, flores, raíces, hojas, y tallos, aunque la mayor concentración se encuentra en general en frutos y flores.

La estructura más sencilla de estos compuestos naturales es la cumarina (benzo[e]piran-2-ona o 5,6-benzo-α-pirona) que originalmente se aisló del haba de tonka y es la responsable del olor característico del heno recién cortado. Su biosíntesis comienza con una hidroxilación en *orto* del ácido cinámico para dar lugar al ácido *trans-o*-cumárico, seguida de la formación del β-glucósido. A continuación, se produce un cambio en la configuración del doble enlace que pasa a *cis*, y por posterior hidrólisis y deshidratación se forma la lactona, como se muestra en la Figura 9.11.

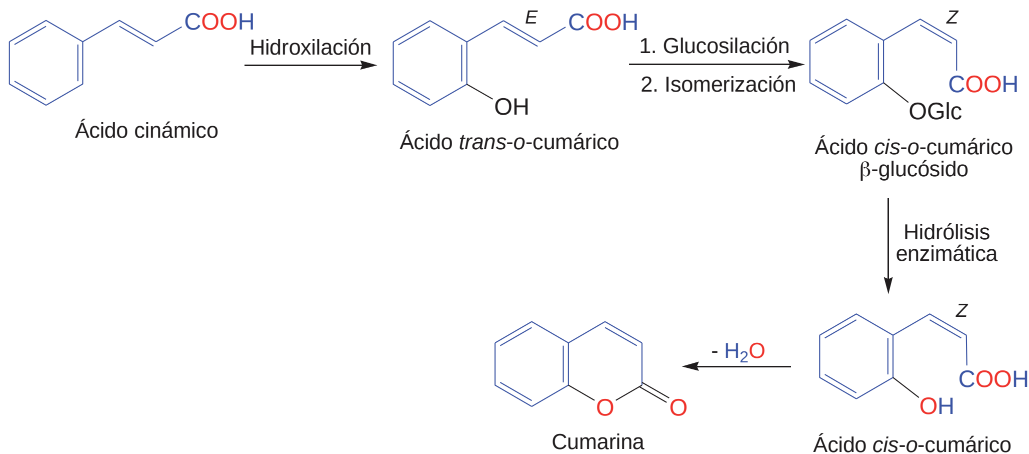


Figura 9.11. Biosíntesis de la cumarina

De manera análoga, en las demás cumarinas la biosíntesis se inicia con la hidroxilación en *orto* de otros ácidos cinámicos, así, a partir del ácido *trans-p*-cumárico se obtiene la umbeliferona, que posee actividad antifúngica y antibacteriana y se utiliza en cremas solares protectoras. Las cumarinas con otros grupos hidroxilo o con otros sustituyentes adicionales, se obtienen por modificaciones funcionales de la umbeliferona. Por ejemplo,

la esculetina con propiedades análogas a la umbeliferona y la escopoletina, con actividad antihipertensiva y antiinflamatoria, y que se utiliza para tratar enfermedades bronquiales y asma (Figura 9.12).

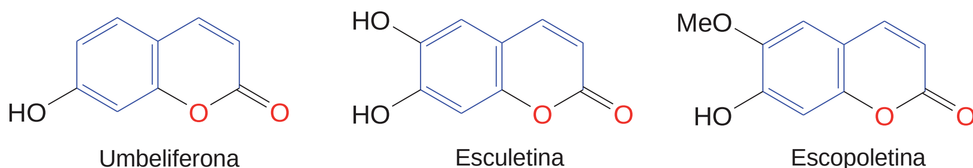


Figura 9.12. Ejemplos de cumarinas

9.6. TANINOS

Son sustancias polifenólicas de origen vegetal y entre sus características destacan: su propiedad antioxidante, debido al elevado número de grupos hidroxilo y la capacidad de unirse a proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas. Su nombre procede de la antigua práctica de utilizar extractos vegetales para convertir la piel animal en cuero, debido a su capacidad de formar enlaces covalentes cruzados entre las fibras del colágeno. Por otro lado, son las sustancias causantes del sabor astringente en muchas bebidas, se utilizan frecuentemente como antidiarreicos y para el tratamiento de heridas y quemaduras, favoreciendo la cicatrización de las mismas.

Químicamente existen dos clases de taninos: los no hidrolizables y los hidrolizables. Los taninos no hidrolizables o también denominados condensados, son pequeños polímeros (oligómeros) de tipo flavonoide, como por ejemplo la epicatequina que se muestra en la Figura 9.13, unidos entre sí mediante enlaces carbono-carbono, obteniéndose en el caso de la epicatequina el trímero. Al no ser glucídicos, son poco solubles en agua y en lugar de hidrolizarse en medio ácido caliente, se transforman en productos de condensación.

Los taninos hidrolizables presentan como núcleo central un alcohol polihídrico como la glucosa, y sus grupos hidroxilo se encuentran esterificados con el ácido gálico o con el ácido elágico, formando galotaninos y elagitaninos, respectivamente (Figura 9.14). Son hidrolizables por ácidos, bases y enzimas.

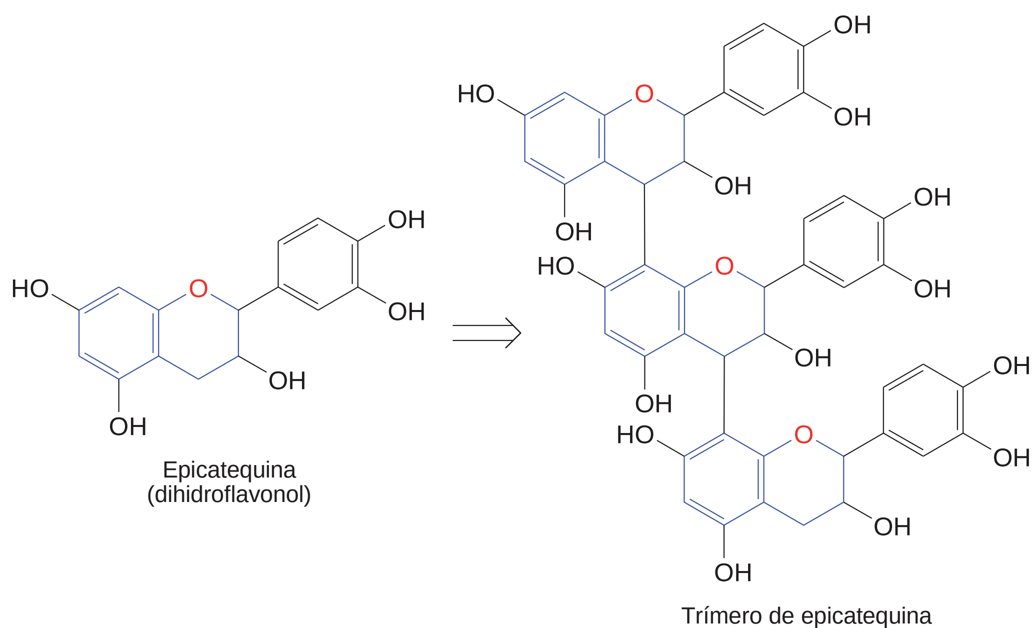


Figura 9.13. Componente de tanino no hidrolizable y un ejemplo

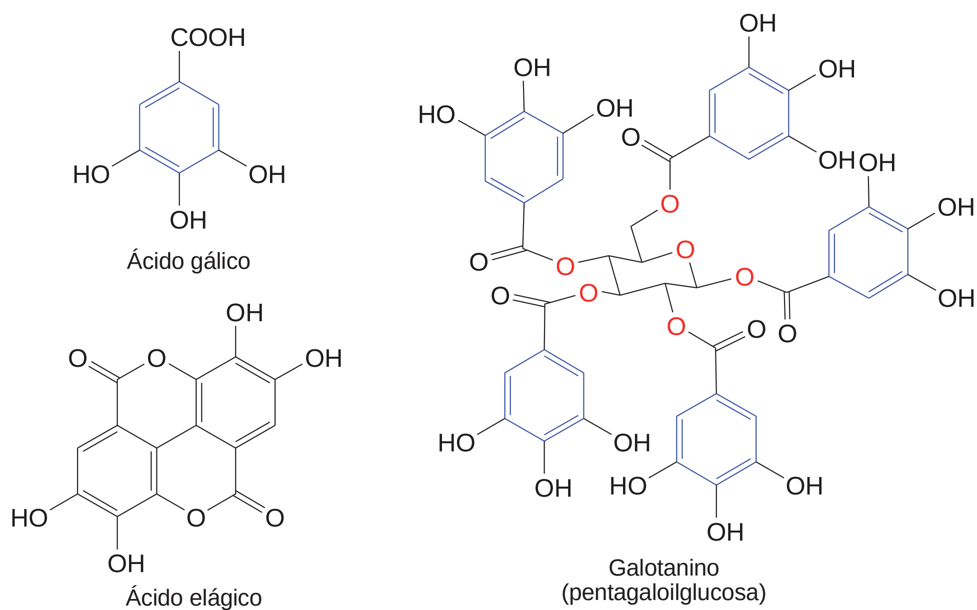


Figura 9.14. Componente de tanino hidrolizable y un ejemplo

9.7. METABOLITOS DE ORIGEN BIOGENÉTICO MIXTO. FLAVONOIDES

En los policétidos aromáticos que se han visto en el Tema 7, el acetato es la unidad iniciadora y se forma la cadena policétida con un número variable de unidades alargadoras de malonato. Cuando la unidad iniciadora tiene su origen en otra vía biogenética diferente, se obtienen los metabolitos denominados de origen biogenético mixto. En este tema únicamente se estudiaran los flavonoides como ejemplo de este tipo de metabolitos.

Los flavonoides contienen un esqueleto de flavano (2-fenilbenzopirano o 2-fenilcromano) ($C_6C_3C_6$), constituido por dos anillos de benceno (A y B) unidos a través de un anillo heterocíclico de pirano (C) (Figura 9.15). Estos sistemas están siempre sustituidos con un número variable de grupos hidroxilo, algunos de los cuales pueden estar a su vez *O*-sustituidos (metilados y glucosilados). Aunque cualquiera de las posiciones de los anillos puede estar oxigenada, es más frecuente encontrar hidroxilos en las posiciones 5, 7 (anillo A) y 4’ (anillo B).

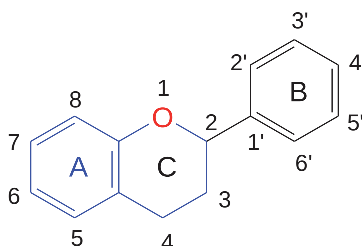


Figura 9.15. Esqueleto de flavano (2-fenilbenzopirano o 2-fenilcromano)

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes como: rayos ultravioleta, polución ambiental, aditivos presentes en los alimentos, etc. La existencia en su estructura de un número variable de grupos hidroxilo fenólicos les proporciona excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere capacidad antioxidante. Dentro de las plantas los estudios han mostrado que estas sustancias se encuentran, la mayoría de las veces, unidas a moléculas de carbohidratos (glucósidos). El organismo humano no puede producir flavonoides, por lo que deben obtenerse de los alimentos o en forma de suplementos.

Son responsables de la mayoría de los colores rojos, azules y amarillos que se observan en las flores.

La estructura básica de 2-fenilbenzopirano permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C. Según el estado de oxidación del heterociclo de pirano (anillo C), los flavonoides se pueden clasificar en: flavanonas, flavonas, isoflavonas, flavonoles, antocianidinas, chalconas y auronas (Figura 9.16).

Las chalconas y auronas se apartan algo de la estructura general, ya que las chalconas tienen una forma isómera de cadena abierta y las auronas poseen un heterociclo oxigenado de cinco miembros.

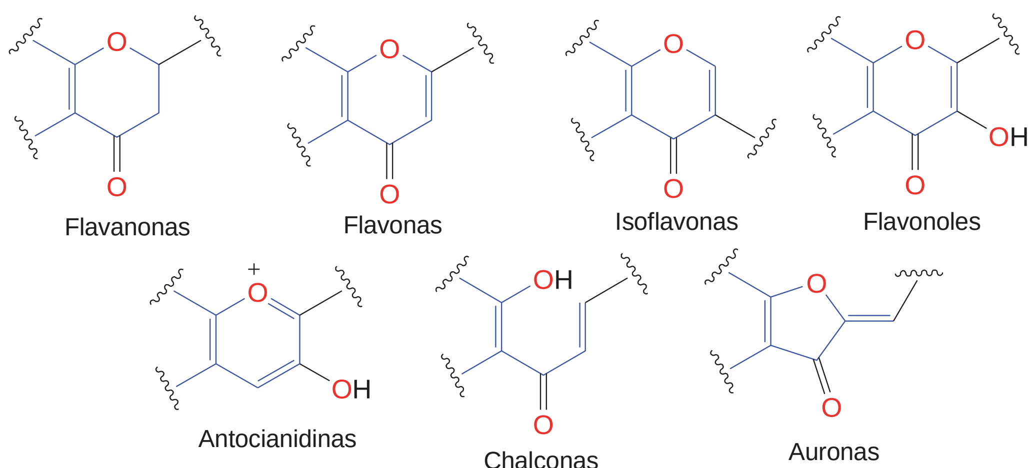


Figura 9.16. Clasificación de los flavonoides

Como se ha mencionado al inicio de este apartado, los flavonoides son metabolitos secundarios de origen biogenético mixto: por un lado, el anillo A proviene de la vía del acetato a través de la malonil-CoA y, por otro, el anillo B junto con los tres carbonos del anillo C provienen de la ruta del ácido shikímico. Un ejemplo del origen biogenético de los flavonoides se pone claramente de manifiesto en la biosíntesis de la naringenina, que es una flavanona (Figura 9.17). La primera etapa consiste en la condensación de 3 moléculas de malonil-CoA (unidades alargadoras) con una molécula de *p*-cumaril-CoA (unidad iniciadora) para formar un policétido, el cual dependiendo de la enzima que actúe puede plegarse de distintos mo-

dos (ver Tema 7, apartado 7.7). En este caso, la enzima que actúa es una *chalcona-sintetasa* de manera que el policétido experimenta una reacción de Claisen intramolecular con posterior enolización para originar la naringenina-chalcona. Un ataque nucleófilo intramolecular tipo Michael sobre esta chalcona va a dar lugar a la formación de la flavanona naringenina, proceso catalizado por la enzima *chalcona-isomerasa*. Esta reacción es estereoespecífica y se forma un solo enantiómero.

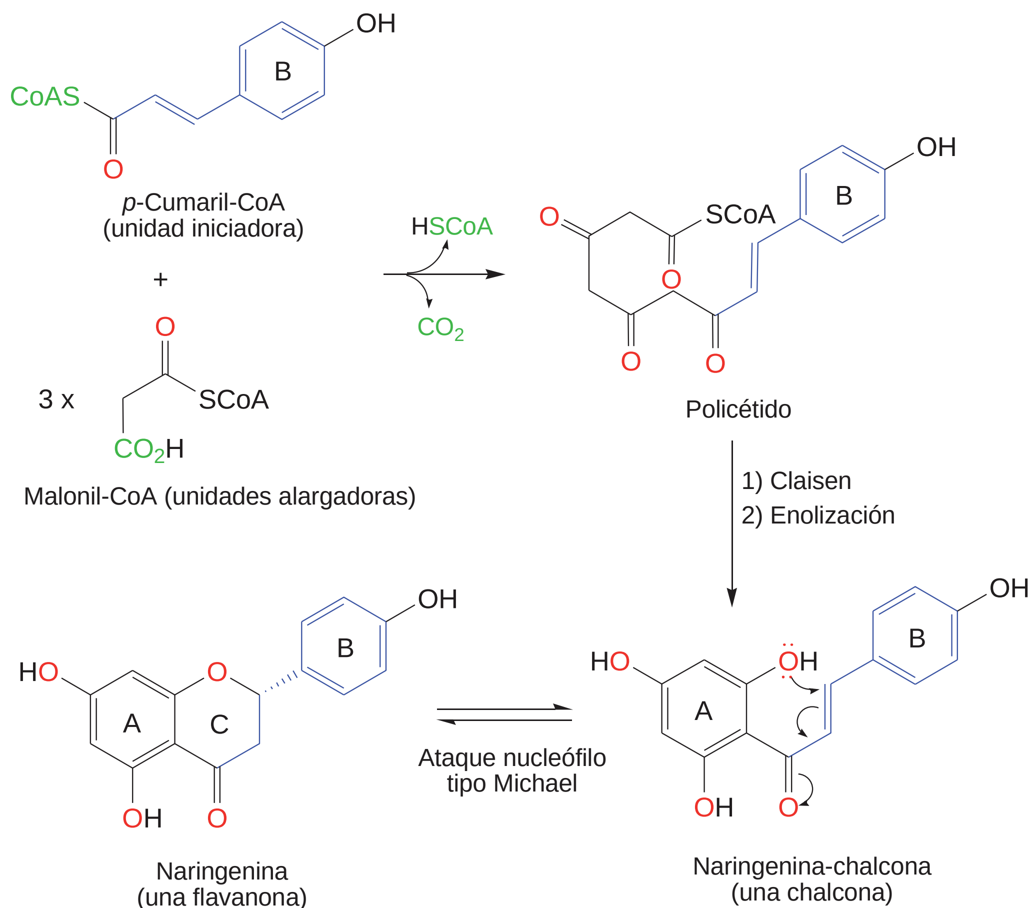


Figura 9.17. Formación biogenética de la flavanona naringenina

Tanto las chalconas como las flavanonas son precursoras de las demás clases de flavonoides, mediante procesos de oxidación y deshidrogenación, catalizados por enzimas específicas.

CONCEPTOS CLAVE

1. El ácido shikímico es el precursor biogenético de los aminoácidos aromáticos fenilalanina (Phe), tirosina (Tyr) y triptófano (Trp).
2. De los 7 carbonos del ácido shikímico, 4 proceden del monosacárido D-eritrosa-4 fosfato y 3 del ácido pirúvico en su forma enólica fosforilada.
3. A partir del ácido shikímico se forman algunos ácidos aromáticos sencillos como son los ácidos quínico, gálico y protocatéquico.
4. El ácido corísmico, obtenido a partir del ácido shikímico, se transforma en ácido prefénico.
5. El ácido corísmico y su isómero, el ácido isocorísmico, son los de precursores biogenéticos de una amplia gama de ácidos aromáticos sencillos, entre los que se encuentra el ácido antranílico que es el precursor biogenético del aminoácido triptófano.
6. El origen de los compuestos fenilpropanoides se encuentra en los aminoácidos fenilalanina y tirosina.
7. Los ácidos cinámico y *p*-cumárico son ejemplos modelo de compuestos fenilpropanoides del tipo estructural C_6C_3. Sirven así mismo de precursores biosintéticos de otros muchos compuestos C_6C_3 mediante reacciones de oxidación, reducción, alquilación, etc.
8. La biogénesis de lignanos se basa en el acoplamiento oxidativo de arilpropenoles, que transcurre por dimerización de los precursores C_6C_3 mediante radicales libres.
9. La lignina es un polímero constituido por la unión aleatoria de fragmentos aromáticos C_6C_3. Las reacciones que los conectan son generalmente acoplamientos fenólicos oxidativos inducidos por peroxidasas.
10. Las cumarinas, en general, son lactonas insaturadas y prácticamente todas, a excepción de la cumarina propiamente dicha, poseen un sustituyente oxigenado en posición 7, ya sea hidroxilado como sucede en la umbeliferona o *O*-sustituido (metilo, azúcar, etc.).
11. Se distinguen dos clases de taninos: hidrolizables y no hidrolizables. Los hidrolizables cuando se someten a hidrólisis dan lugar a un azúcar

y a una o varias moléculas de los ácidos que los forman. Los no hidrolizables permanecen inalterados en condiciones de hidrólisis y suelen consistir en compuestos monómeros u oligómeros de tipo flavonoide.

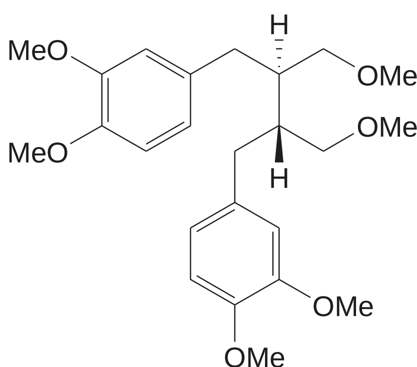
12. Los flavonoides son metabolitos de origen biogenético mixto ya que sus anillos tienen diferente origen: el anillo A proviene de la vía del acetato y el anillo B y los tres carbonos del anillo C, del ácido shikímico.

EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

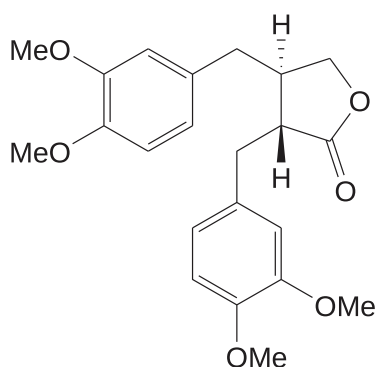
1. Proponer un mecanismo razonable que explique la transformación de la forma hemiacetálica del ácido 3-desoxi-D-arabinoheptulosónico-7-fosfato (DAHP) en el ácido 3-deshidroquínico.

2. Proponer un mecanismo que explique la formación del ácido 2,3-dihidroxibenzoico cuando el ácido corísmico reacciona con agua.

3. Proponer rutas biosintéticas razonables para la formación de los lignanos, filantina y arctigenina, a partir del alcohol coniferílico.

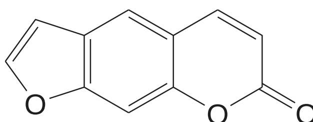


Filantina



Arctigenina

4. El psoraleno pertenece al grupo de las denominadas furocumarinas. Proponer la ruta biosintética que permite su formación.

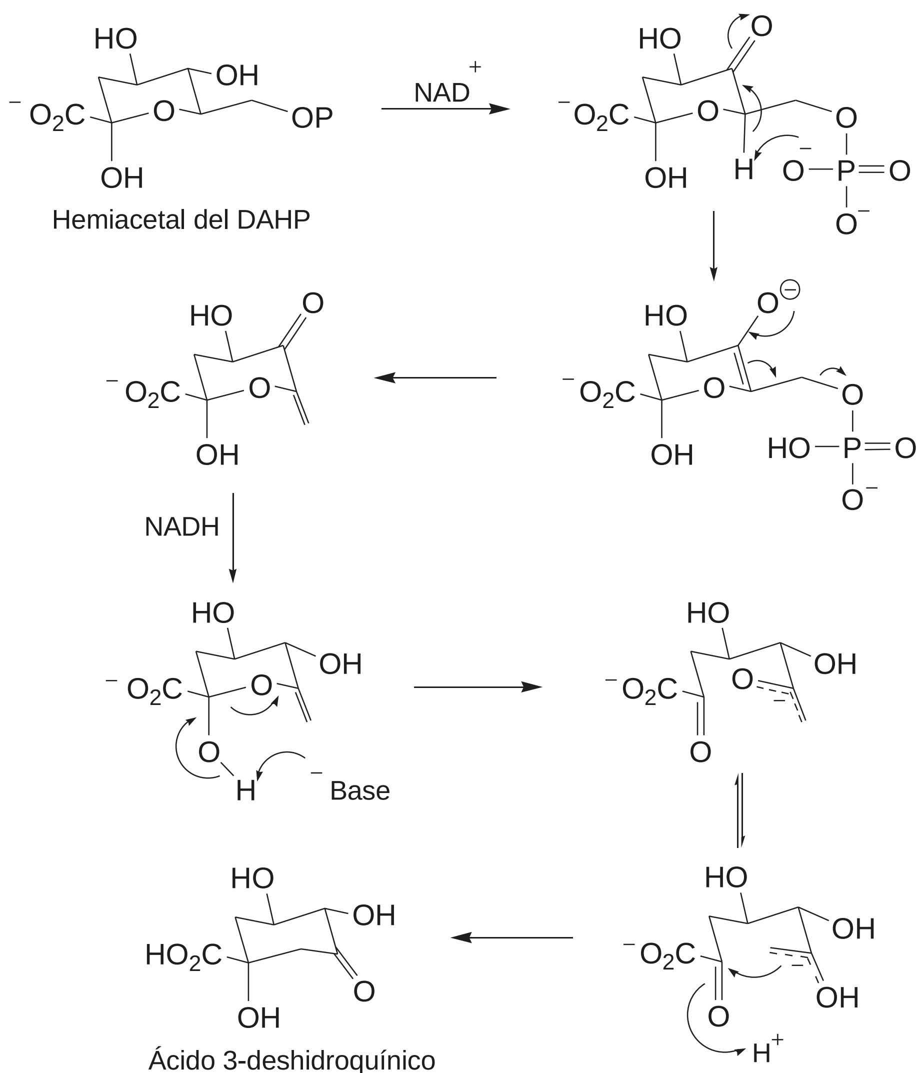


Psoraleno

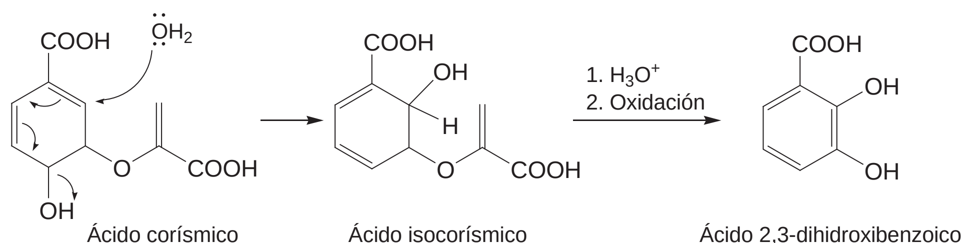
5. Representar la ruta biosintética para la formación de chalconas, flavanonas, flavonas, flavonoles y antocianinas, partiendo de la reacción que se produce entre el ácido cinámico o *p*-cumárico y la malonil-CoA. Indicar que tipo de reacciones tienen lugar en las diferentes etapas.

SOLUCIONES A LOS EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

1. En la primera etapa de reacción se produce una oxidación del hemiacetal del DAHP, dando lugar a una cetona. A continuación el grupo fosfato actúa como base, facilitando así su eliminación. La reducción de la cetona mediante NADH es seguida posteriormente, por una segunda abstracción de protón. La apertura del anillo conduce a la formación del ácido 3-deshidroquínico.

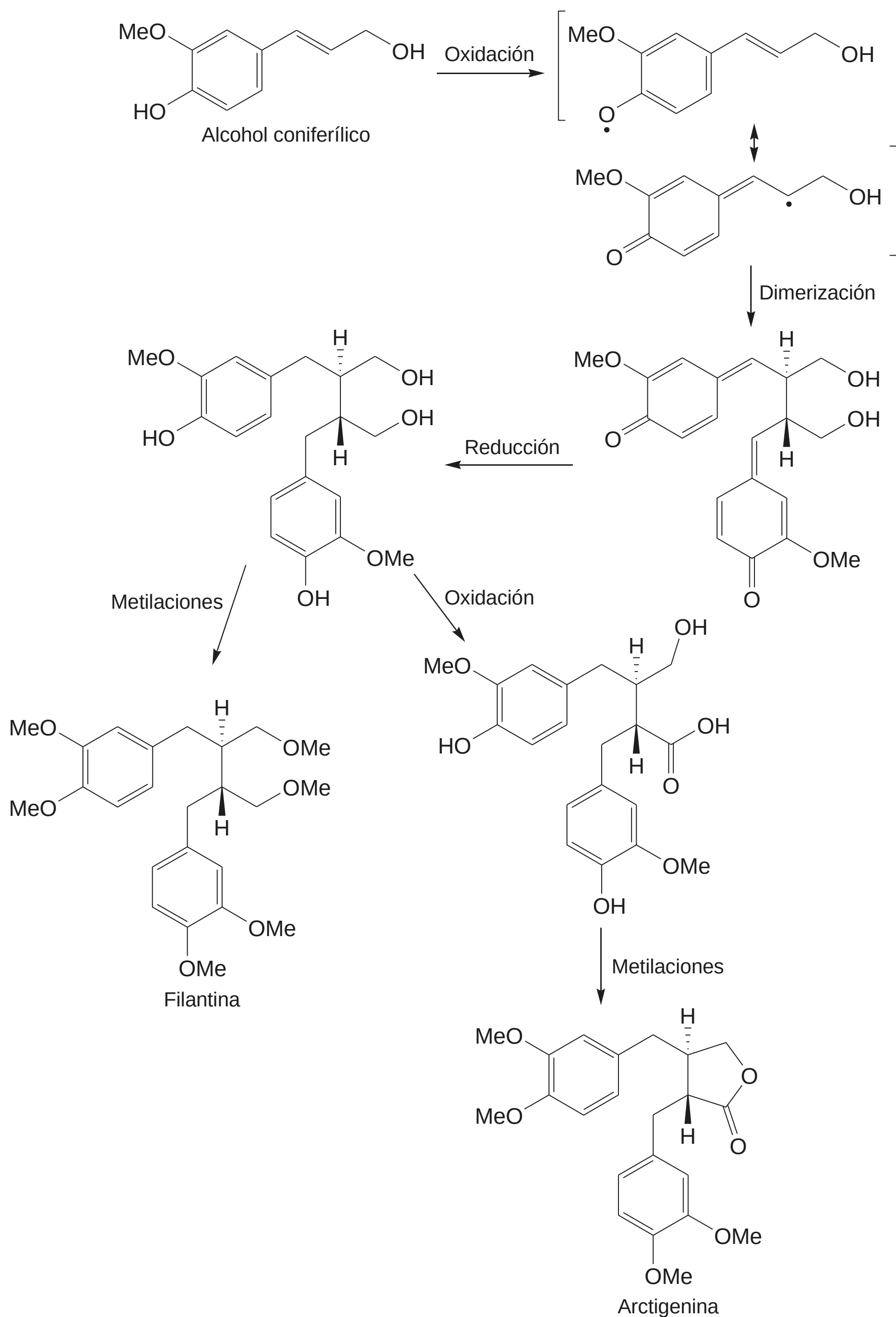


2.

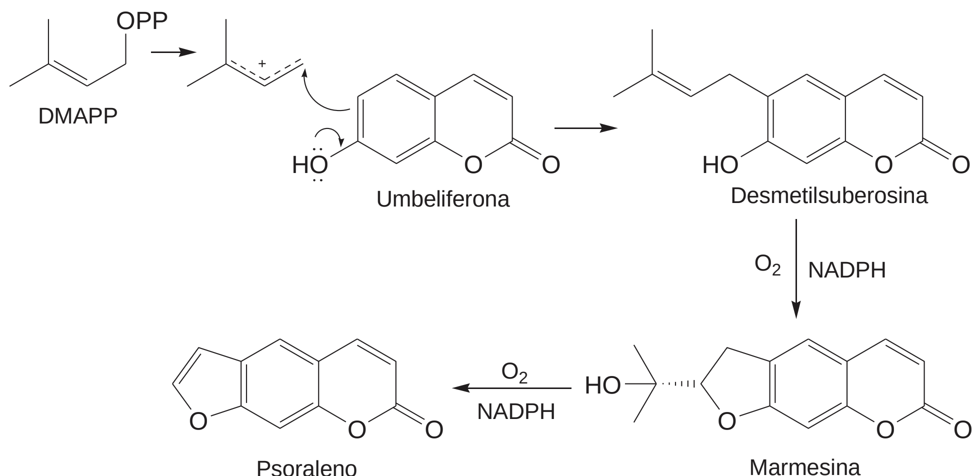


Tiene lugar la adición de una molécula de agua al ácido corísmico con formación del ácido isocorísmico que experimenta en primer lugar, una hidrólisis del enoléter y posterior reacción de oxidación para obtener el ácido 2,3-dihidroxibenzoico.

3. Se trata de una reacción de acoplamiento oxidativo de un alcohol C_6C_3, en este caso el alcohol coniferílico. Los lignanos filantina y arctigenina se obtienen a partir de este alcohol por acoplamiento radicalario a través de los carbonos centrales de la cadena lateral, con la pérdida de aromaticidad del anillo bencénico. El proceso de polimerización está mediado por enzimas peroxidasas.


MeO
HO
OH
Alcohol coniferílico
Oxidación
MeO
O
OH
MeO
O
OH
Dimerización
MeO
O
H
OH
OH
H
O
OMe
Reducción
MeO
HO
H
OH
OH
H
OMe
OH
Metilaciones
Oxidación
MeO
MeO
H
OMe
OMe
H
OMe
OMe
Filantina
MeO
HO
H
OH
OH
H
O
OMe
OH
Metilaciones
MeO
MeO
H
O
H
O
OMe
OMe
Arctigenina

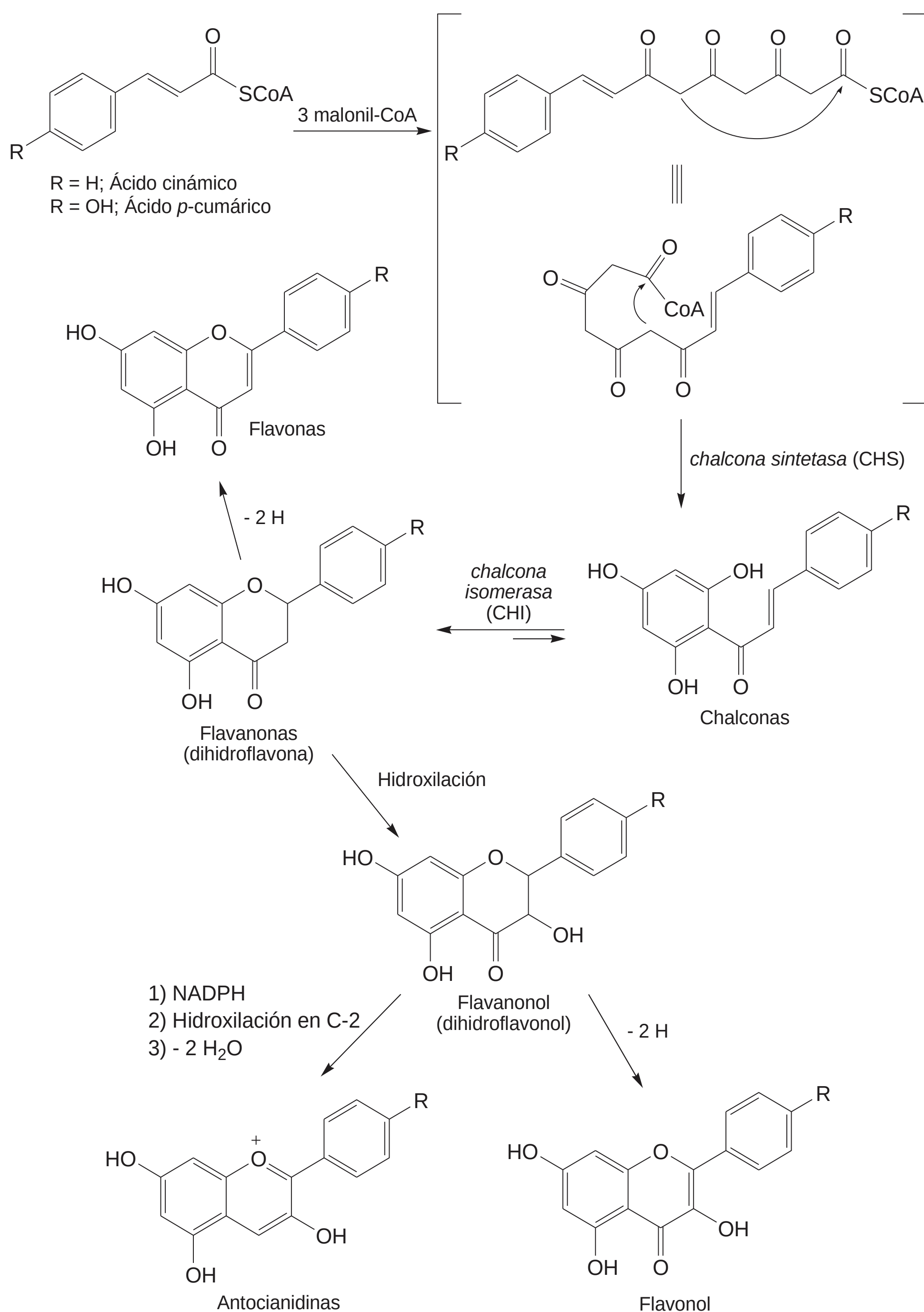
4. La ruta biosintética para la obtención de psoraleno es la siguiente:



El primer paso es la alquilación en posición *orto* del fenol por el agente alquilante pirofosfato de dimetilalilo (DMAPP) obteniéndose la desmetilsuberosina. La ciclación intramolecular de ésta dar lugar a la marmesina, transformación que es catalizada por el citocromo P450 dependiente de la monooxigenasa y requiere la presencia del cofactor NADPH y de oxígeno. En la última etapa, el fragmento hidroxisopropilo se desprende de la marmesina por la acción de otra monooxigenasa dependiente también del citocromo P450, siendo el resultado la furocumarina (cumarina condensada con un anillo de furano) denominada psoraleno.

5. La construcción del esqueleto flavonoide comienza como una cadena policétida en la que el ácido cinámico o, más frecuentemente, el ácido *p*-cumárico actúan de unidad iniciadora, que es luego alargada con tres fragmentos de malonato, mediante una reacción de condensación de Claisen. El plegamiento mediante aldolización intramolecular conduce a la formación de las chalconas, siendo catalizada esta parte del proceso por la *chalcona sintetasa* (CHS).

   Las chalconas experimentan una adición de Michael intramolecular que da lugar a las flavanonas, proceso catalizado de manera estereoespecífica por la *chalcona isomerasa* (CHI). Éstas mediante una reacción de oxidación dan lugar a las flavonas y por una hidroxilación en el C3 se obtienen los flavanonoles.



SCoA
3 malonil-CoA
R = H; Ácido cinámico
R = OH; Ácido p-cumárico
SCoA
CoA
chalcona sintetasa (CHS)
Flavonas
- 2 H
chalcona isomerasa (CHI)
Chalconas
Flavanonas (dihidroflavona)
Hidroxilación
Flavanonol (dihidroflavonol)
1) NADPH
2) Hidroxilación en C-2
3) - 2 H_2O
- 2 H
Antocianidinas
Flavonol

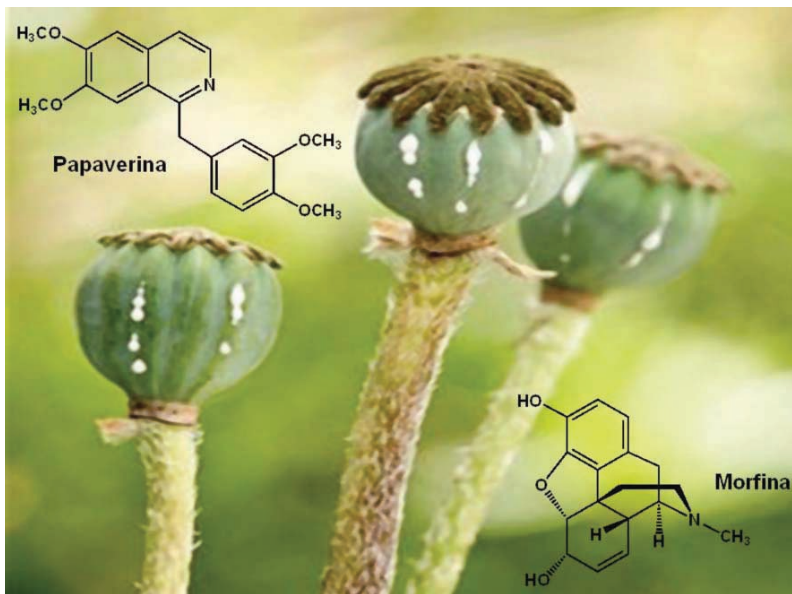
En los flavanonoles se produce una reacción de oxidación que da lugar a los flavonoles. Por último, las antocianidinas se forman a partir del flavanonol en varias etapas: reducción del grupo carbonilo con NADPH para dar el flavan-3,4-*cis*-diol; posterior hidroxilación en el C-2; y, por último, una doble deshidratación.

Todas estas reacciones de oxidación son catalizadas por enzimas específicas.

TEMA 10

METABOLITOS DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS. ALCALOIDES

Dolores Santa María Gutiérrez



De la Adormidera (*Papaver somniferum*) se extraen alcaloides como la morfina y la papaverina

SUMARIO

OBJETIVOS

General

Reconocer las diferentes clases de alcaloides en función del sistema heterocíclico presente y, a su vez, de acuerdo al aminoácido del que provienen. Describir e interpretar las diferentes etapas y secuencias que conducen a la biosíntesis de los alcaloides.

Específicos

1. Clasificar los alcaloides de acuerdo a su origen biosintético.
2. Utilizar la reacción adecuada (oxidación, reducción, hidroxilación, condensación aldólica, etc.) para cada etapa de una biosíntesis concreta de un alcaloide.
3. Aplicar las reacciones más específicas tales como, formación de bases de Schiff, condensación de Mannich y descarboxilación en la biosíntesis de alcaloides.
4. Proponer mecanismos de reacción en la síntesis de alcaloides.
5. Reconocer el cofactor enzimático que debe intervenir en una determinada etapa de la biosíntesis de un alcaloide.
6. Conocer el origen taxonómico de los alcaloides más representativos.

10.1. INTRODUCCIÓN

Los aminoácidos son moléculas precursoras de una gran variedad de productos naturales. Ya se ha visto en el Tema 9 la participación de los aminoácidos aromáticos fenilalanina y tirosina en la biosíntesis de metabolitos derivados del ácido shikímico. Este tema va a dedicarse al estudio de otra clase muy importante y amplia de productos naturales que también provienen de aminoácidos, los alcaloides.

El nombre alcaloide (de álcali, base) fue acuñado por primera vez por el químico alemán Carl Friedrich Wilhelm Meissner en 1819 para referirse a productos naturales de origen vegetal que mostraban propiedades básicas similares a los álcalis, que contenían nitrógeno en una estructura relativamente compleja, y que presentaban una actividad farmacológica importante. En la actualidad, se utiliza la palabra alcaloide de forma más restringida incluyendo solo a los metabolitos secundarios que contienen nitrógeno, normalmente formando parte de un heterociclo, de carácter más o menos básico, y en los que parte de la estructura, incluyendo el átomo de nitrógeno, proviene de los aminoácidos.

La diversidad estructural y la variedad en la actividad biológica de los alcaloides hacen que sea un grupo importante entre las sustancias naturales de interés terapéutico. Un gran número de medicamentos se han obtenido de plantas que contienen alcaloides (principalmente de leguminosas y solanáceas), estando presentes en todos los órganos de la planta: en hojas (cocaína, nicotina, pilocarpina); en flores (escopolamina, atropina); en frutos (alcaloides del opio, peletiarina, coniína); en semillas (piperina, arecolina); en cortezas (quinina, tubocurarina); y en las raices (emetina y cefalina).

Fuente	Alcaloide	Heterociclo	Aminoácido
Belladona, Mandrágora, Beleño	Hiosciamina	Tropano	C_4N ← Ornitina
Coca	Higrina	Pirrolidina	C_4N ← Ornitina
Tabaco	Anabasina	Piperidina	C_5N ← Lisina
Altramuz	Lupinina	Quinolizidina	x 2 ← Lisina
Peyote	Anhalonina	1,2,3,4-Tetra-hidroisoquinolina	x 2 ← Tirosina
Cornezuelo del centeno	Ácido lisérgico	Indol	← Triptófano

Figura 10.1. Algunos ejemplos de alcaloides indicando el aminoácido precursor, el heterociclo presente y la fuente de la que se extrae

10.2. BIOSÍNTESIS Y CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN DE LOS ALCALOIDES

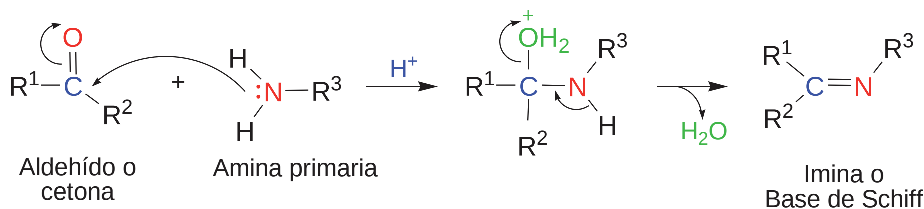
Como se acaba de comentar, la estructura de los alcaloides deriva total o parcialmente de los aminoácidos. Las teorías desarrolladas a principios del siglo XX, a las cuales contribuyó en gran medida Robert Robinson, premio Nobel de Química en 1947, afirmaban que las estructuras de muchos alcaloides podían desconectarse en fragmentos cuyo esqueleto C-N mostraba relación con un número reducido de aminoácidos limitándose, principalmente, a los aminoácidos ornitina, lisina, tirosina y triptófano (Figura 10.1).

Como se observa en la Figura 10.1, la mayoría de los alcaloides retienen la práctica totalidad de la estructura del aminoácido precursor, a excepción del grupo carboxilo que, por lo general, suele perderse por descarboxilación. Además, en muchos casos, el aminoácido solo constituye una parte de la estructura del alcaloide, el resto proviene de la vía metabólica del acetato-malonato, de la del ácido shikímico o de algunos precursores isoprénicos. Hay casos en los que es muy sencillo identificar el aminoácido precursor, como ocurre en los alcaloides del cornezuelo del centeno ya que se reconoce rápidamente el anillo de indol del triptófano, sin embargo, hay otros en los que no resulta tan evidente.

En la biosíntesis de alcaloides intervienen diferentes tipos de reacciones orgánicas y los aminoácidos, como moléculas precursoras de los mismos, van a experimentar una serie de transformaciones, algunas de ellas comunes en la obtención de una gran variedad de metabolitos, tales como reacciones de oxidación, reducción, deshidratación, descarboxilación o condensación aldólica, y otras más específicas de la biosíntesis de alcaloides, como son la condensación de Mannich o la formación de bases de Schiff (Figura 10.2).

Ya se ha comentado en el Tema 6 los diferentes criterios de clasificación de los productos naturales. En el caso de los alcaloides, un sistema comúnmente empleado se basa en el tipo de heterociclo de nitrógeno presente en su estructura (alcaloides pirrolidínicos, indólicos, tropánicos, piperidínicos, etc.). Otros autores utilizan la clasificación taxonómica, alcaloides del tabaco, del tropano, de la coca, del curare, etc. Sin embargo, en este texto se van clasificar según el origen biogenético (ver Figura 6.8 del Tema 6), agrupando a los alcaloides de acuerdo al aminoácido precursor (alcaloides derivados de la ornitina, lisina, tirosina y triptófano).

Formación de bases de Schiff (generación de enlaces C=N)



Condensación de Mannich (generación de enlaces C-C-N)

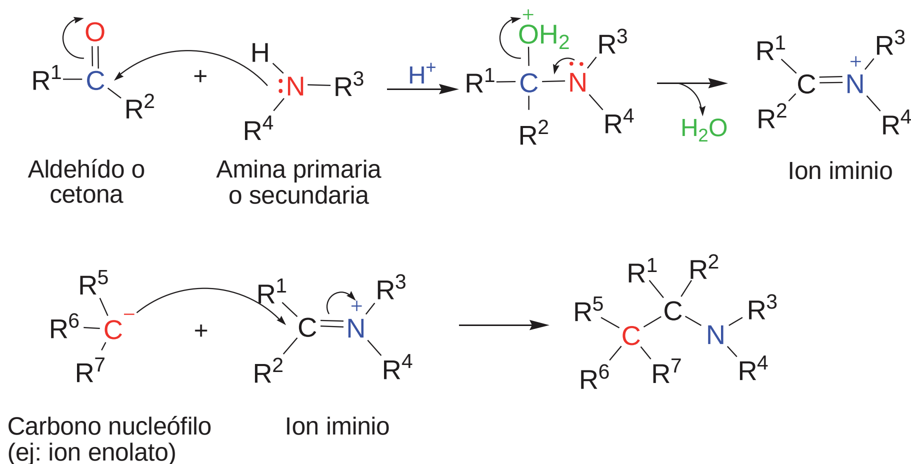


Figura 10.2. La formación de bases de Schiff y la condensación de Mannich son reacciones típicas en la biosíntesis de alcaloides

10.3. ALCALOIDES DERIVADOS DE LA ORNITINA Y LA LISINA

Los alcaloides pirrolidínicos y piperidínicos provienen, salvo raras excepciones, del metabolismo de los aminoácidos ornitina y lisina, respectivamente.

La ornitina es un aminoácido no proteico que forma parte del ciclo de la urea de los mamíferos y se biosintetiza a partir de la arginina por eliminación hidrolítica de urea en una reacción catalizada por la enzima arginasa. Las primeras etapas biosintéticas de los alcaloides de este grupo consisten en la conversión de los aminoácidos ornitina y lisina en las especies intermedias de iminio cíclicas (Δ^1-deshidropirrolidinio y Δ^1-deshidropiperidinio, respectivamente), así como en sus correspondientes sales de iminio

N-metiladas (Figura 10.3). Como puede observarse estos intermedios poseen un carbono electrófilo, que podrá ser atacado por distintos nucleófilos dando lugar a los diferentes alcaloides de esta familia de aminoácidos.

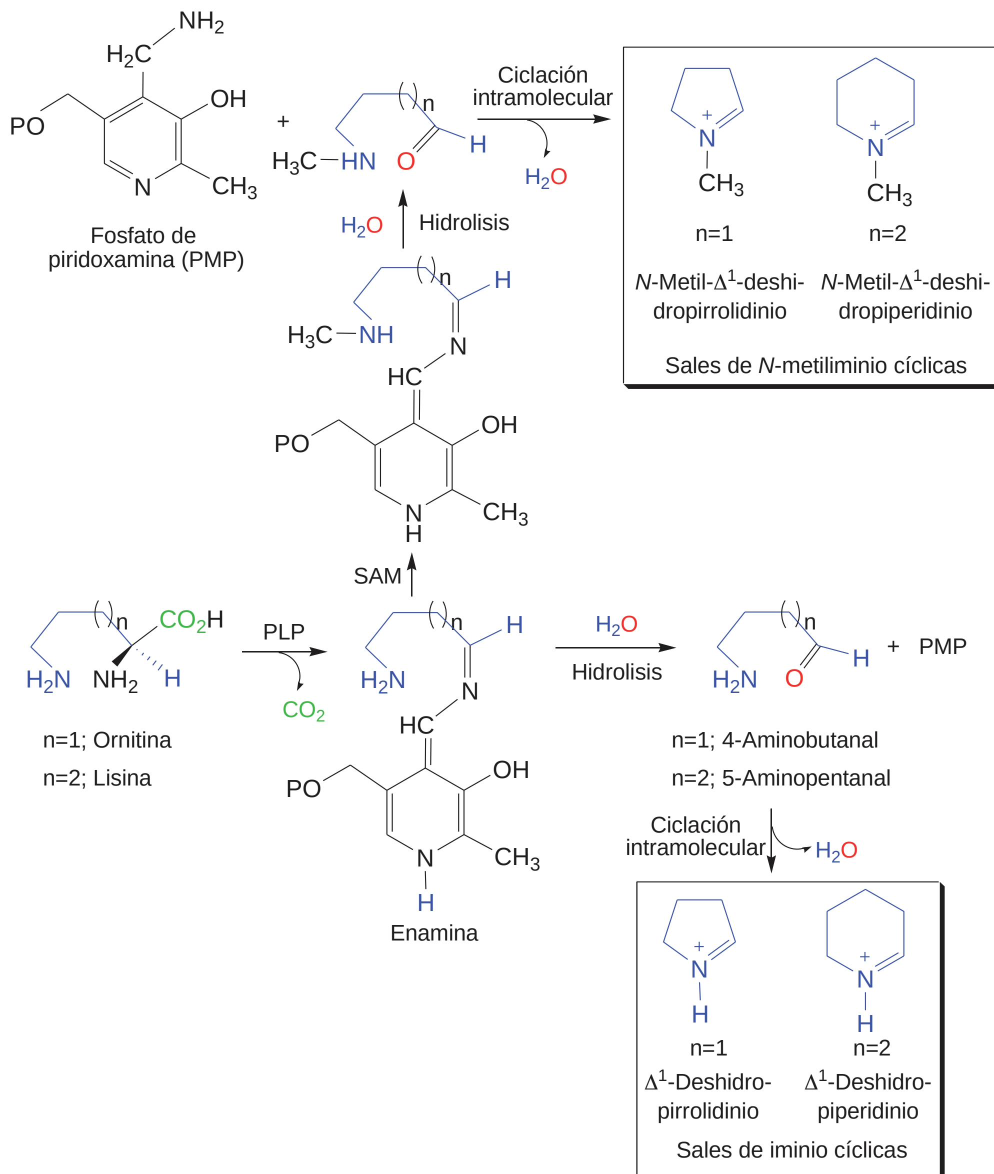


Figura 10.3. Formación de las sales de iminio cíclicas como intermedios clave para la formación de los alcaloides derivados de la ornitina y de la lisina

La utilización de aminoácidos marcados isotópicamente ha permitido demostrar que el grupo amino terminal de la ornitina y de la lisina es el que finalmente se incorpora para formar las sales de iminio cíclicas, y que además el hidrógeno del carbono C-2 es retenido en el proceso. Todo ello hace proponer el mecanismo que se muestra en la Figura 10.3: la descarboxilación del aminoácido con la coenzima PLP da origen a un intermedio enamínico susceptible de dar por hidrólisis el 4-aminobutanal (o 5-aminopentanal) cuya ciclación intramolecular espontánea genera la sal de iminio o base de Schiff protonada. La obtención de los intermedios de *N*-metiliminio sigue el mismo proceso, previa metilación de la enamina con *S*-adenosilmetionina (SAM).

10.3.1. Derivados de la ornitina

Los alcaloides estructuralmente más sencillos son los derivados simples de pirrolidina. A partir de las sales de pirrolidinio que, como ya se ha comentado, poseen un carbono electrófilo, diversos nucleófilos carbonados (generalmente enolatos), procedentes de diversas vías biosintéticas, podrán adicionarse al enlace C=N dando lugar a nuevos enlaces carbono-carbono.

Por ejemplo, dos alcaloides derivados simples de la pirrolidina son la higrina y la cuscohigrina, ambos aislados de la coca (Figura 10.4).

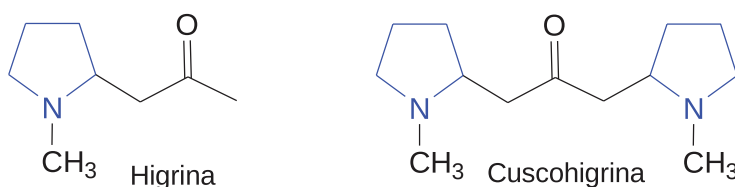


Figura 10.4. Alcaloides pirrolidínicos

La biosíntesis de la higrina en su forma racémica (*R*/*S*) se inicia con una reacción tipo Mannich entre la sal de *N*-metilpirrolidinio (electrófilo) y el ion enolato de la acetil-CoA (nucleófilo) para formar la *N*-metilpirrolidinacetil-CoA. A continuación, una condensación de Claisen con una segunda molécula de acetil-CoA produce la *N*-metilpirrolidinacetoacetil-CoA.

La hidrólisis del tioéster y posterior descarboxilación conduce finalmente a la higrina (Figura 10.5).

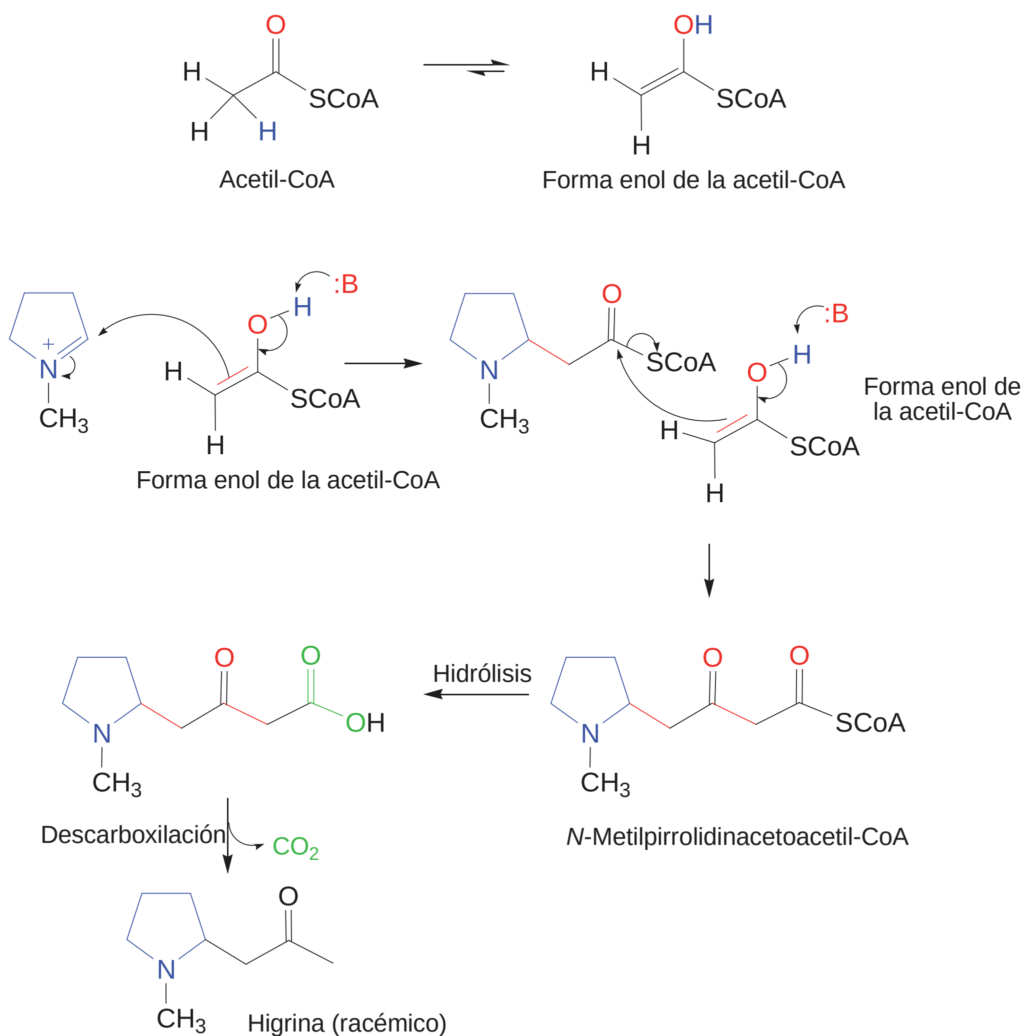


Figura 10.5. Biosíntesis de la higrina, un alcaloide aislado de la coca

Otros alcaloides de este grupo son los denominados alcaloides del tropano, aislados de géneros tales como *Hyoscyamus niger* (Beleño), *Erythoxylum coca*, entre otros. Ejemplos de estos alcaloides son la hiosciamina, la hioscina y la cocaína (Figura 10.6).

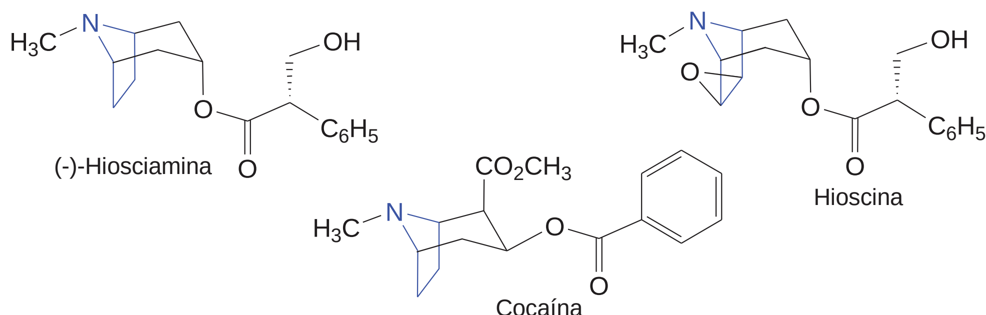


FIGURA 10.6. Alcaloides tropánicos derivados de la ornitina

La biosíntesis de la (-)-hiosciamina pasa por un intermedio, la tropinona, cuya síntesis se muestra en la Figura 10.7. Se parte del isómero *R* de la *N*-metilpirrolidinacetoacetil-CoA: la oxidación del enlace C-N con la coenzima NADP+; posterior reacción de condensación de Mannich intramolecular, por ataque del enolato a la sal de iminio; hidrólisis del éster de la acetil-CoA; y, descarboxilación, da lugar a la tropinona.

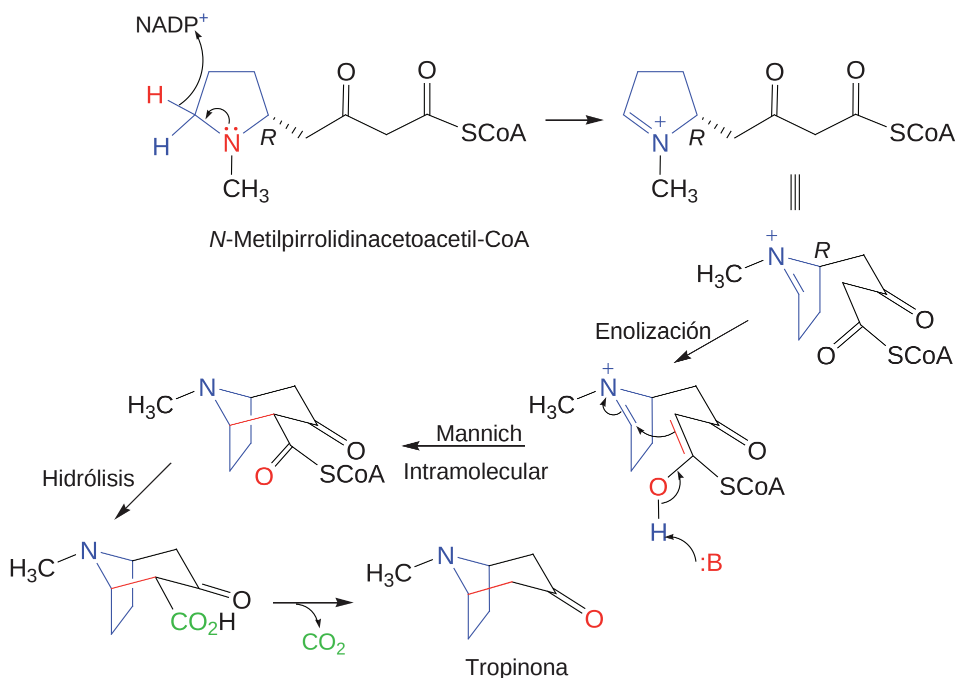


Figura 10.7. Biosíntesis de la tropinona

La reducción del grupo carbonilo de la tropinona con la coenzima NADPH y la esterificación con ácido (*S*)-trópico conduce a la (-)-hiosciamina (Figura 10.8).

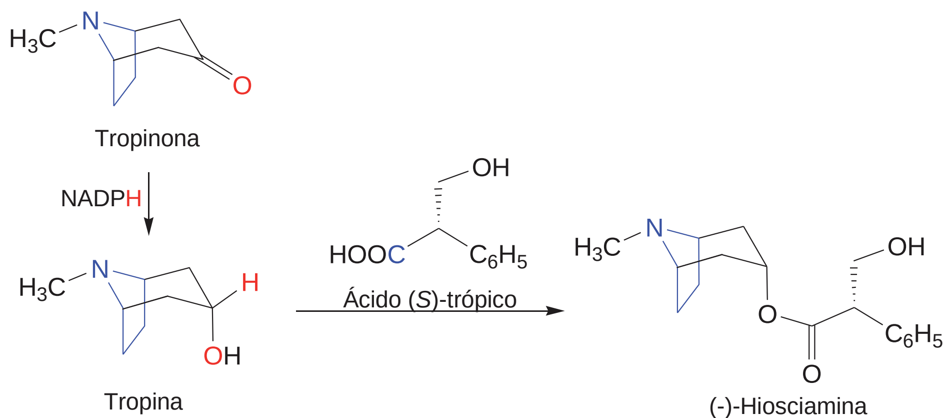


Figura 10.8. Biosíntesis de la (-)-hiosciamina

Otra familia importante son los alcaloides del tabaco que tienen en común un anillo de piridina cuyo precursor inmediato es el ácido nicotínico (vitamina B_3 o niacina) que es el componente esencial de las coenzimas NAD^+ y $NADP^+$ (ver Tema 4). Los alcaloides nicotina y nornicotina se pueden incluir dentro del grupo de los alcaloides derivados de la ornitina ya que además del anillo de piridina también presentan en su estructura un anillo de pirrolidina (Figura 10.9).

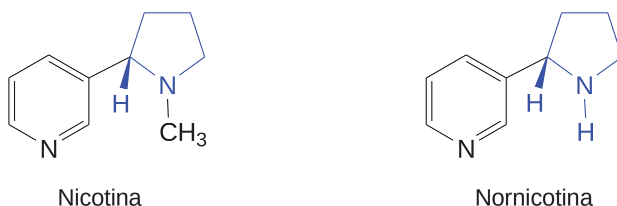


Figura 10.9. Alcaloides del tabaco

Para la biosíntesis de la nicotina se necesita unir los dos heterociclos, el de piridina, que proviene del ácido nicotínico, y el de pirrolidina, que como ya se ha visto, tiene su origen en la ornitina. Para ello, el ácido nicotínico se reduce (transferencia de hidruro desde el NADPH) y se des-

carboxila para dar la 1,2-dihidropiridina (Figura 10.10), que al ser una enamina rica en electrones (nucleófilo) va a reaccionar con el ion *N*-metil-Δ^1-deshidropirrolidinio (electrófilo) en una reacción tipo aldólico. En una última etapa de oxidación por transferencia de hidruro con NADP+ se recupera el sistema piridínico (Figura 10.10).

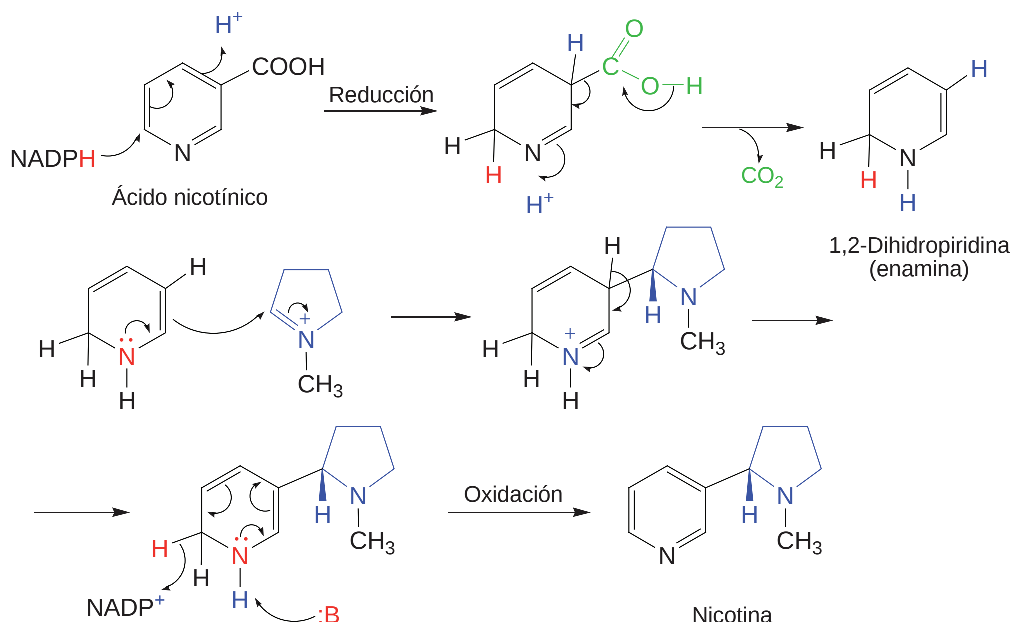


Figura 10.10. Biosíntesis de la nicotina

También son frecuentes los alcaloides cuya biogénesis precisa de dos moléculas de ornitina originando el núcleo bicíclico de pirrolizidina. Se obtienen a partir de especies de géneros tales como *Senecio*, *Crotalaria* y *Heliotropim* y, como ejemplos, se pueden citar la laburnina o la retronecina (Figura 10.11).

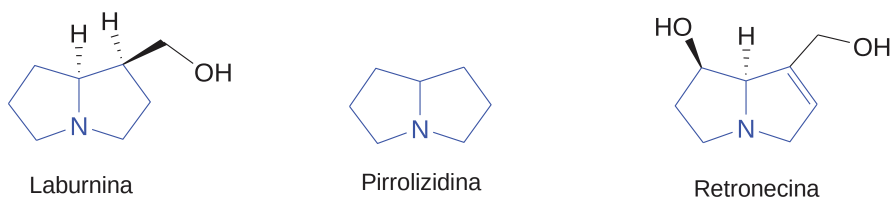


Figura 10.11. Alcaloides de pirrolizidina (derivan de dos moléculas de ornitina)

10.3.2. Derivados de la lisina

Los miembros estructuralmente más sencillos son los derivados de las sales de piperidinio que se forman por vías biogenéticas similares a las vistas para los alcaloides de la ornitina, si bien aquí hay un átomo de carbono adicional. Ejemplos de alcaloides de este tipo son la pelletierina y la anaferina (Figura 10.12). Es evidente el parecido estructural con la higrina y la cuscohigrina (ver Figura 10.4), siendo igualmente de origen policetído el fragmento adicional de tres átomos de carbono. Con los conocimientos ya adquiridos, el estudiante será capaz de completar el esquema biosintético de la anaferina del ejercicio n.º 3.

También existe una semejanza estructural de la anabasina (Figura 10.12), un alcaloide del tabaco, con la nicotina (ver Figura 10.9): ambos tienen en común el anillo aromático de piridina y la diferencia se encuentra en el anillo saturado, que en el caso de la anabasina es un anillo hexagonal (piperidina) procedente del aminoácido lisina. Por ello, la ruta biosintética de la anabasina es similar a la mostrada en la Figura 10.10 para la nicotina, simplemente hay que sustituir el ion *N*-metil-Δ^1-deshidropirrolidinio por el ion Δ^1-deshidropiperidinio.

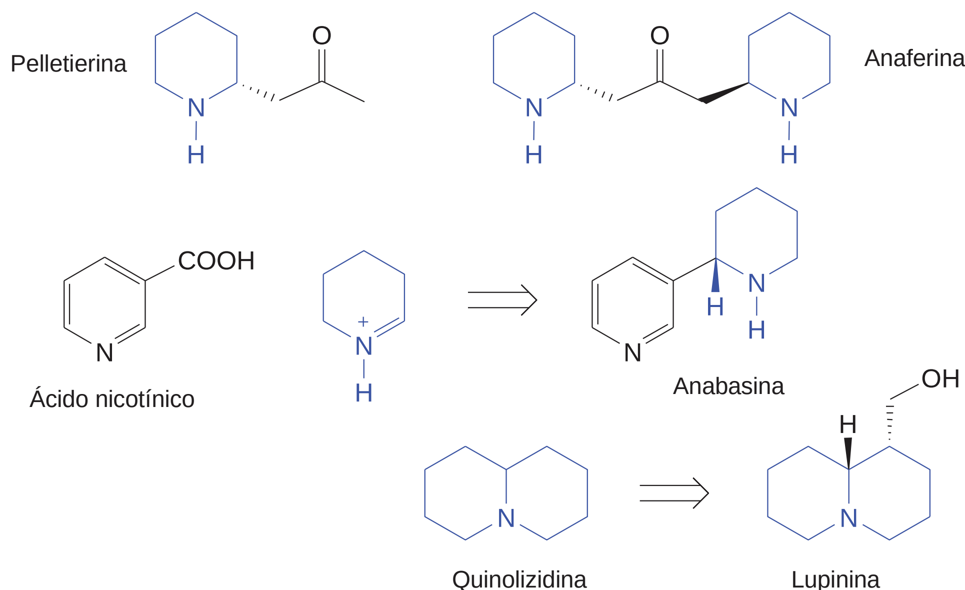


Figura 10.12. Alcaloides derivados de la lisina

Por otro lado, al igual que dos moléculas de ornitina originan los alcaloides del grupo de la pirrolizidina, dos moléculas de lisina van a dar lugar a la familia de los alcaloides del grupo de la quinolizidina, siendo un ejemplo representativo la lupinina (Figura 10.12) aislada del altramuz amarillo europeo *Lupinus luteus* (ver biosíntesis en ejercicio n.º 4).

10.4. ALCALOIDES DERIVADOS DE LA TIROSINA

El aminoácido tirosina es el precursor de un amplio grupo de alcaloides. En este apartado se van a considerar algunos ejemplos que ayuden a ilustrar, tanto la diversidad estructural existente, como los principios biosintéticos necesarios para su obtención.

La tirosina va a aportar al alcaloide el fragmento estructural que contiene el anillo bencénico y la cadena con los dos carbonos y el nitrógeno, es decir, Ar–C–C–N. Como se verá a continuación, en función del número de fragmentos de dicho origen que se aporte, se pueden obtener diversas estructuras tales como, 2-feniletilaminas, isoquinolinas y bencilisoquinolinas.

10.4.1. 2-Feniletilaminas

Son los alcaloides más sencillos de este grupo ya que únicamente contienen un fragmento Ar–C–C–N. Ejemplos característicos son la mezcalina, aislada del cactus alucinógeno peyote y la hordenina, encontrada en la cebada. En la Figura 10.13 se muestra la biosíntesis de estos dos alcaloides a partir de la L-tirosina.

Como se observa en la Figura 10.13, la hordenina se obtiene a partir de la tirosina por descarboxilación y posterior doble *N*-metilación con SAM. Por otro lado, para sintetizar la mezcalina se necesita, aparte de reacciones de descarboxilación y metilación, reacciones de hidroxilación, lo cual se consigue por acción de enzimas monooxigenasas (utilizan O_2) y su correspondiente coenzima (BH_4 o NADPH).

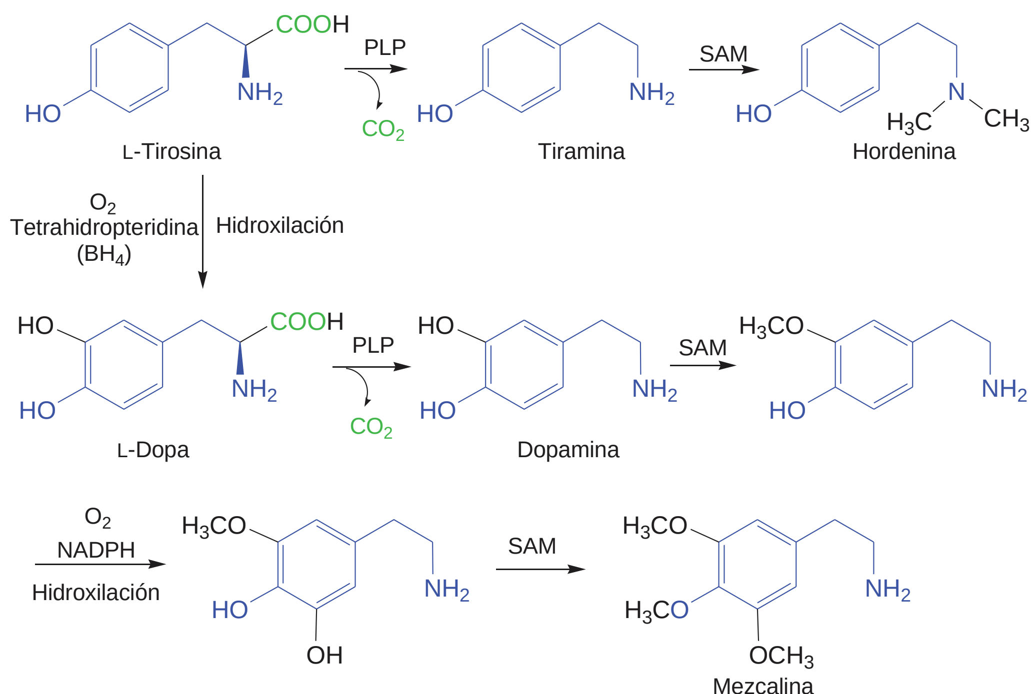


Figura 10.13. Biosíntesis de la hordenina y mezcalina, alcaloides de 2-feniletilamina derivados de la tirosina

10.4.2. Isoquinolinas

En orden de complejidad creciente, los siguientes alcaloides derivados de la tirosina son los que tienen un sistema heterocíclico de isoquinolina en forma de 1,2,3,4-tetrahidroderivado (Figura 10.14).

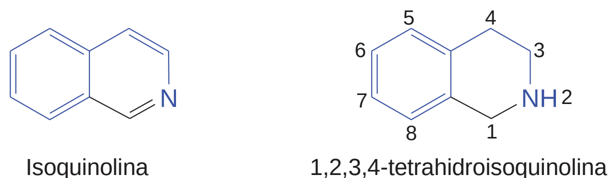


Figura 10.14. Estructura de los heterociclos de isoquinolina y 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina

Ejemplos de este tipo de alcaloides son la anhalonidina y la anhalonina que, al igual que la mezcalina, se aíslan del cactus peyote. Los átomos de

carbono adicionales son proporcionados por un α-cetoácido, el ácido pirúvico. Como se observa en la Figura 10.15, primero se forma una base de Schiff por reacción de condensación del grupo ceto del ácido pirúvico con el grupo amino de la feniletilamina.

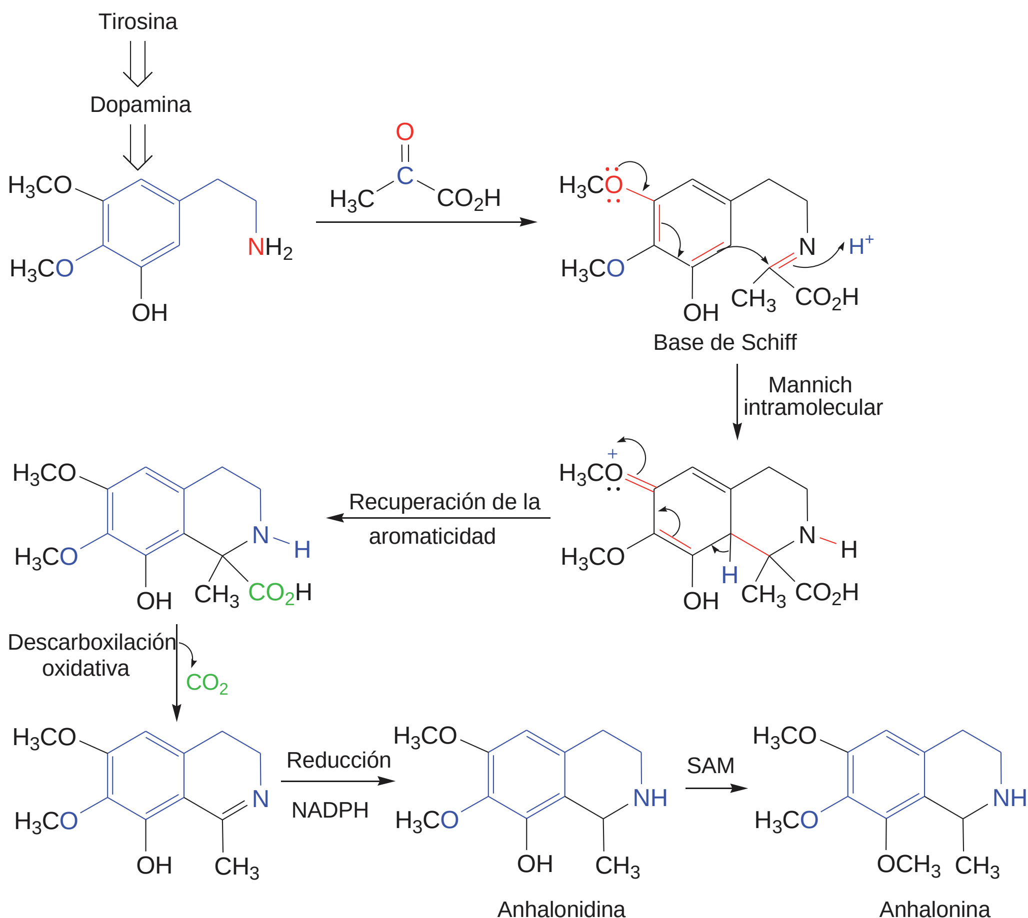


Figura 10.15. Biosíntesis de la anhalonidina y anhalonina, alcaloides isoquinolínicos derivados de la tirosina

A continuación, en una reacción de Mannich intramolecular se cicla generando el sistema de isoquinolina. La recuperación de la aromaticidad y posterior descarboxilación oxidativa da lugar al intermedio imínico que por reducción forma la anhalonidina. La metilación del grupo fenólico con SAM conduce al derivado trimetoxilado de anhalonina.

10.4.3. Bencilisoquinolinas

Sin duda alguna, el grupo más importante y numeroso de alcaloides derivados de la tirosina son los basados en el sistema heterocíclico de bencilisoquinolina (Figura 10.16).

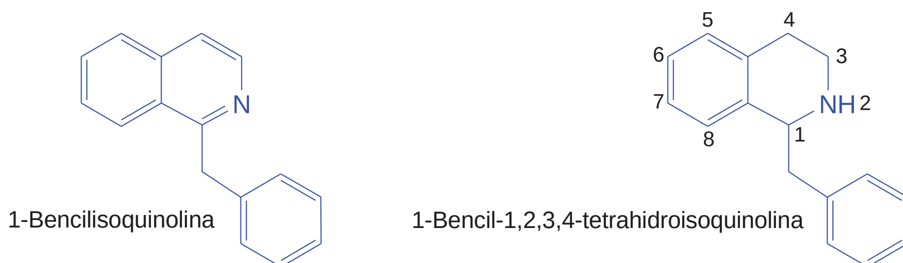


Figura 10.16. Estructura de 1-bencilisoquinolina y 1-bencil-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina

En la biosíntesis de estos alcaloides intervienen dos moléculas de L-tirosina. Por ejemplo, en la síntesis de la (*S*)-norcoclaurina (Figura 10.17) una tirosina es hidroxilada y descarboxilada para dar la dopamina (ver Figura 10.13), y la otra experimenta un proceso de transaminación obteniéndose el ácido *p*-hidroxifenilpirúvico (α-cetoácido) cuya descarboxilación conduce al *p*-hidroxifenilacetaldehído (ver mecanismo de esta última etapa en la Figura 5.10 del Tema 5). Ahora, estas dos moléculas condensan formando la base de Schiff y por posterior reacción de Mannich intramolecular dan la (*S*)-norcoclaurina.

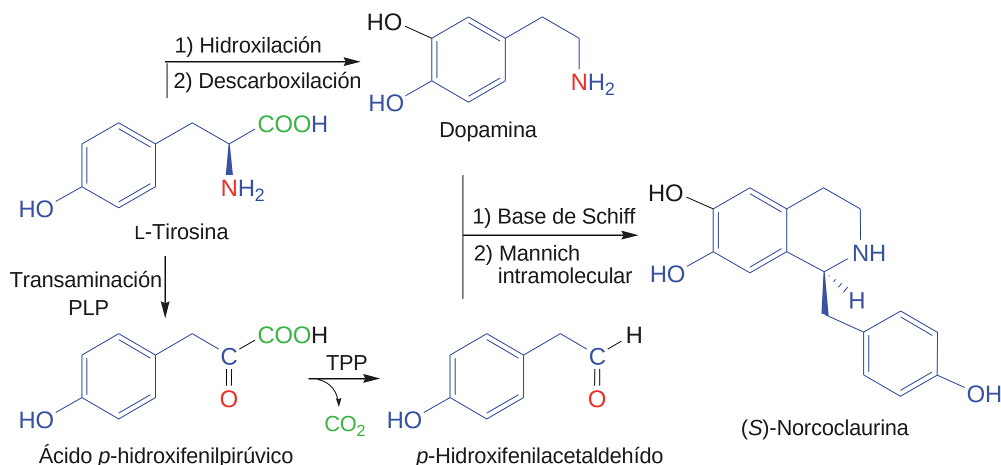


Figura 10.17. Biosíntesis de la (*S*)-norcoclaurina, alcaloide bencilisoquinolínico

A partir de la (*S*)-norcoclaurina se pueden obtener otros alcaloides del grupo mediante procesos de oxidación y metilación. Ejemplos son la (*S*)-reticulina (Figura 10.18) y la papaverina (ver ejercicio de autocomprobación n.º 5), ambos identificados en el opio. La (*S*)-reticulina, es un compuesto clave en la biosíntesis de muchos alcaloides complejos de este grupo y se obtiene a partir de la (*S*)-norcoclaurina mediante dos etapas de metilación (*O*- y *N*-metilación) y una de oxidación (hidroxilación de enlaces C-H aromáticos).

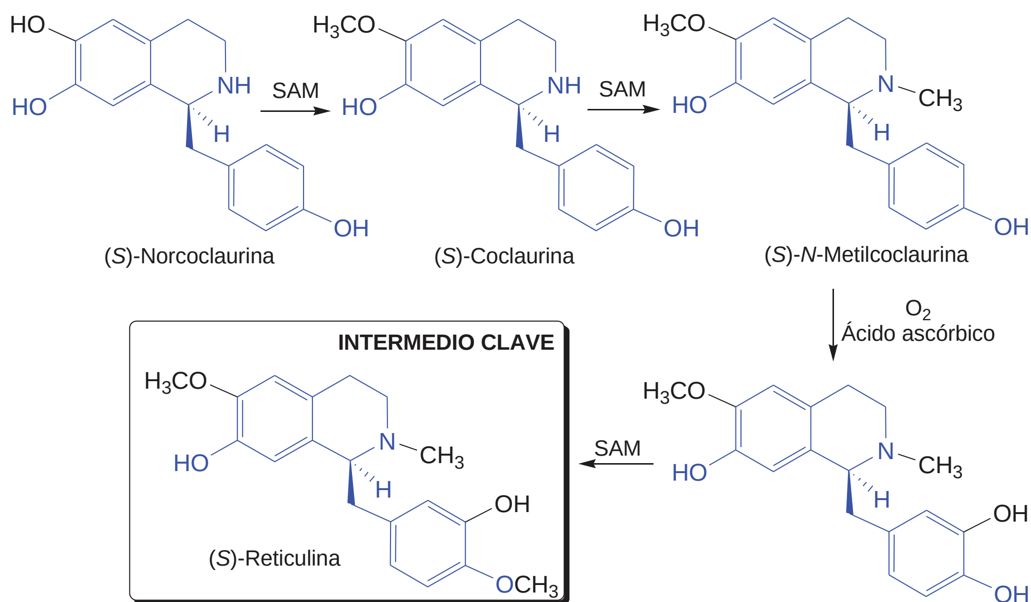


Figura 10.18. Biosíntesis de la (*S*)-reticulina, intermedio clave en la biosíntesis de muchos alcaloides bencilisoquinolínicos complejos

Otros alcaloides importantes identificados en el opio, látex extraído de las cápsulas inmaduras de adormidera, *Papaver somniferum*, son los conocidos como alcaloides morfinanos entre los que se encuentran la morfina, la codeína y la tebaína (Figura 10.19).

Estudios de marcaje isotópico demostraron que la tebaína es el primer alcaloide morfinano originado en el opio. La desmetilación y la reducción conducen a la codeína y, por último otra desmetilación a la morfina (Figura 10.19). Las desmetilaciones están catalizadas por enzimas monooxi-

genasas del citocromo P450 que producen la hidroxilación del enlace C-H (ver mecanismo en sección 5.3.4 del Tema 5) del grupo $-OCH_3$ para formar $-OCH_2OH$ que evoluciona con pérdida de formaldehído.

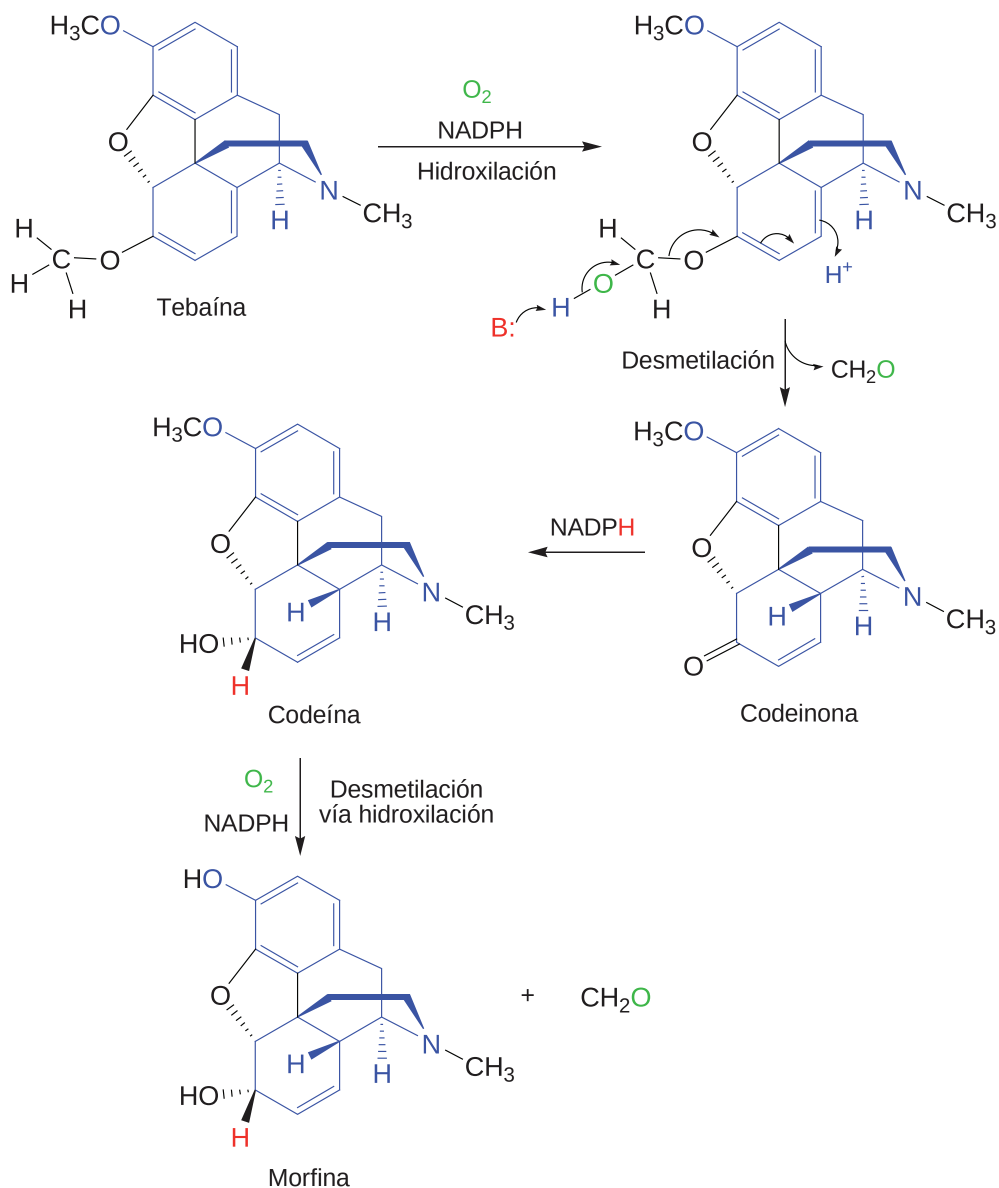


Figura 10.19. Biosíntesis de la codeína y la morfina a partir de la tebaína

10.5. ALCALOIDES DERIVADOS DEL TRIPTÓFANO

Uno de los grupos de alcaloides más numeroso e importante está constituido por aquellos que contienen un sistema heterocíclico de tipo indol que provienen biosintéticamente del aminoácido triptófano (Figura 10.20). Algunos son derivados sencillos del indol, pero la mayoría contiene una cadena alifática C_5, C_{10} (o C_9) de origen terpénico lo que da lugar a una enorme variedad y complejidad estructural. Hay, incluso, algunos en los que el sistema de indol ha desaparecido en el transcurso de la biogénesis y muestran en su estructura sistemas heterocíclicos distintos al indol como es el caso de la quinina (Figura 10.20).

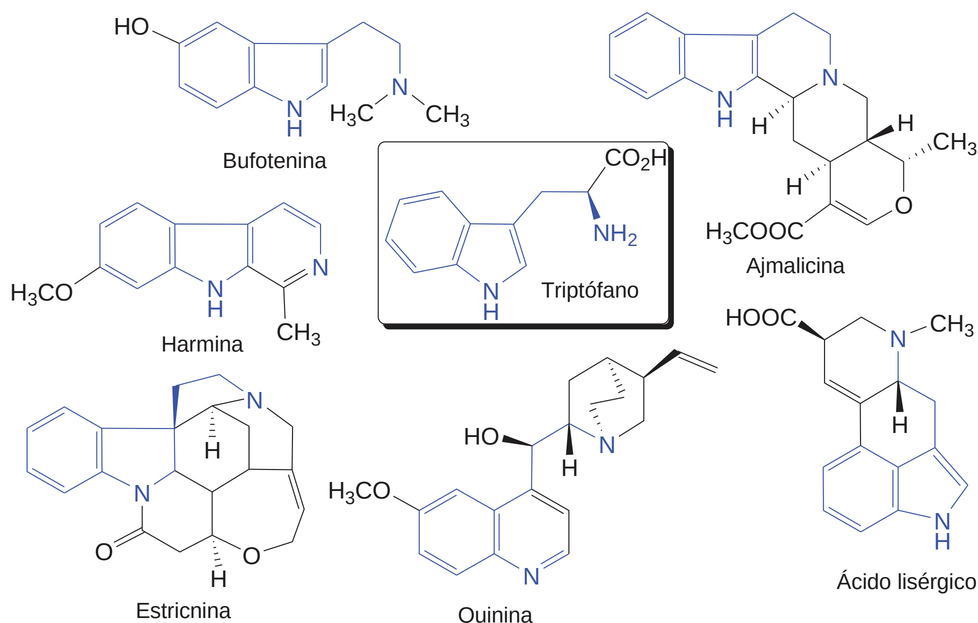


Figura 10.20. Ejemplos de alcaloides derivados del aminoácido triptófano

Hay una gran similitud entre las pautas biogenéticas de los alcaloides procedentes del triptófano y los procedentes de los aminoácidos fenilalanina y tirosina. También se inicia el proceso con una descarboxilación del aminoácido dando lugar a la molécula de triptamina que contiene el sistema de indol y una cadena lateral con dos carbonos y un nitrógeno; Ar-C-C-N (Ar=indol) (Figura 10.21), siendo éste el fragmento característico de una parte de los alcaloides de este grupo.

Algunos alcaloides como la harmina (ver Figura 10.20) presentan un sistema heterocíclico de tipo β-carbolina que únicamente añade dos carbonos más al segmento de triptamina. Dicho sistema de β-carbolina se genera mediante la formación de la base de Schiff entre la triptamina y un aldehído o α-cetoácido y posterior reacción tipo Mannich (Figura 10.21) (ver ejemplo concreto en el Ejercicio de autocomprobación n.º 6) siendo, por tanto, reacciones análogas a las que se han visto en la biosíntesis de los alcaloides isoquinolínicos derivados del aminoácido tirosina (ver Figura 10.15).

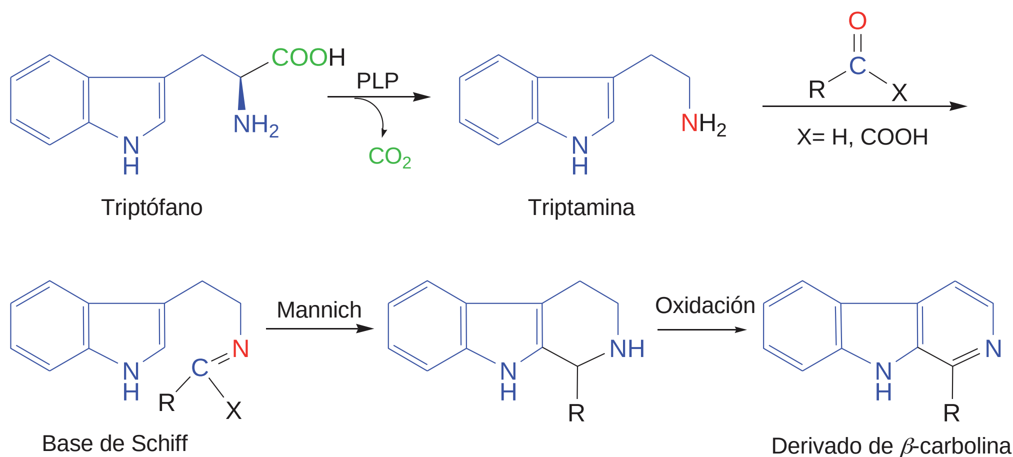


Figura 10.21. Biosíntesis de alcaloides β-carbolínicos derivados del aminoácido triptófano

Los derivados indólicos sencillos como la harmina son minoritarios y la práctica totalidad de los alcaloides de este grupo tiene su origen en un intermedio clave, la estrictosidina, formada por condensación entre la triptamina y el aldehído secologanina (Figura 10.22). Los alcaloides a los que puede dar lugar la estrictosidina, provienen de transformaciones que afectan a la parte terpénica y, aunque algunas pueden ser sencillas, como las que dan lugar a los alcaloides indólicos tipo ajmalicina (ver Figura 10.20), otras pueden llegar a ser tan complejas que el segmento monoterpénico del que se ha partido puede ser difícilmente reconocible. A este último caso pertenecen los alcaloides del curare que comprenden compuestos como la estricnina (ver Figura 10.20), una potente toxina con propiedades venenosas, o los alcaloides antimaláricos tipo quinina (ver Figura 10.20), aislados de la corteza de la quina.

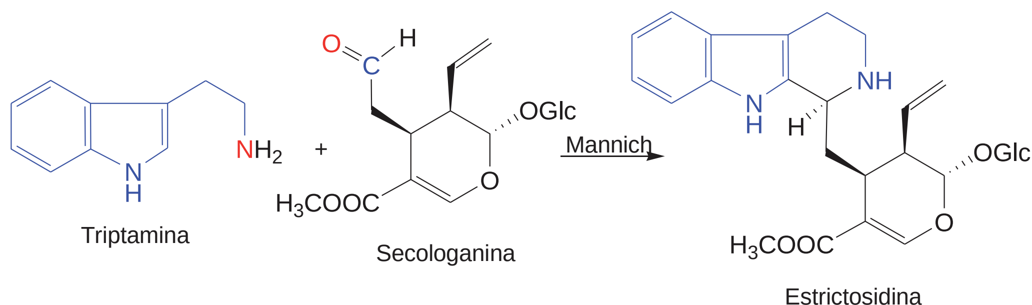


Figura 10.22. Biosíntesis de la estrictosidina, precursor de alcaloides indólicos más complejos

Además de los alcaloides indólicos con el fragmento de secologanina, hay otros tipos de compuestos indólicos con fragmentos terpénicos. Los más conocidos son los aislados de los hongos del género *Claviceps*, por ejemplo, el que produce el llamado cornezuelo del centeno, causante de muchas intoxicaciones en épocas pasadas. En estos compuestos la unidad derivada del triptófano está unida a un fragmento isoprénico C5 que proviene del pirofosfato de dimetilalilo (DMAPP). El ejemplo más representativo es el ácido lisérgico que se aísla normalmente en forma de amidas con diferentes tipos de aminas naturales o pequeños péptidos. Como se observa en la Figura 10.23 la biosíntesis se inicia con una *C*-alquilación del carbono-4 del indol que tiene carácter nucleófilo debido al átomo de nitrógeno del indol.

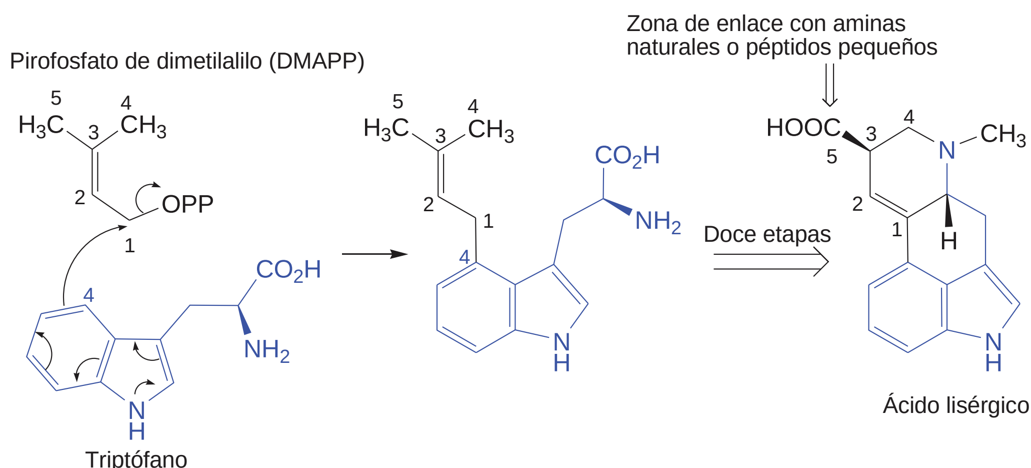


Figura 10.23. Primera etapa en la biosíntesis del ácido ligérgico, precursor de otros alcaloides relacionados más complejos

CONCEPTOS CLAVE

1. La mayor parte de los alcaloides pueden desconectarse en fragmentos en la que una parte del esqueleto muestra relación con un número reducido de aminoácidos, principalmente, ornitina, lisina, tirosina y triptófano, y otra parte proviene, bien de la vía del acetato, de la del ácido shikímico o de la del mevalonato.

2. La formación de iminas o bases de Schiff, la condensación de Mannich y la descarboxilación del aminoácido precursor son reacciones típicas en la biosíntesis de alcaloides.

3. Los alcaloides que presentan en parte de su estructura un sistema heterocíclico de pirrolidina (anillo pentagonal) o piperidina (anillo hexagonal) provienen de los aminoácidos ornitina y lisina, respectivamente, siendo las sales de iminio cíclicas correspondientes, junto con las *N*-metiladas, los intermedios clave en la biosíntesis de los alcaloides de estos dos grupos.

4. Los átomos de carbono adicionales presentes en los alcaloides derivados de la ornitina y la lisina provienen de la ruta del acetato (acetil-CoA) en el caso de los derivados sencillos y, adicionalmente, de la del ácido shikímico por lo que se refiere a la parte aromática presente en los derivados del tropano.

5. Los alcaloides del tabaco tienen en común un anillo de piridina, cuyo precursor es el ácido nicotínico, y un anillo, bien de pirrolidina o bien de piperidina, dependiendo si el precursor es el aminoácido ornitina o lisina, respectivamente.

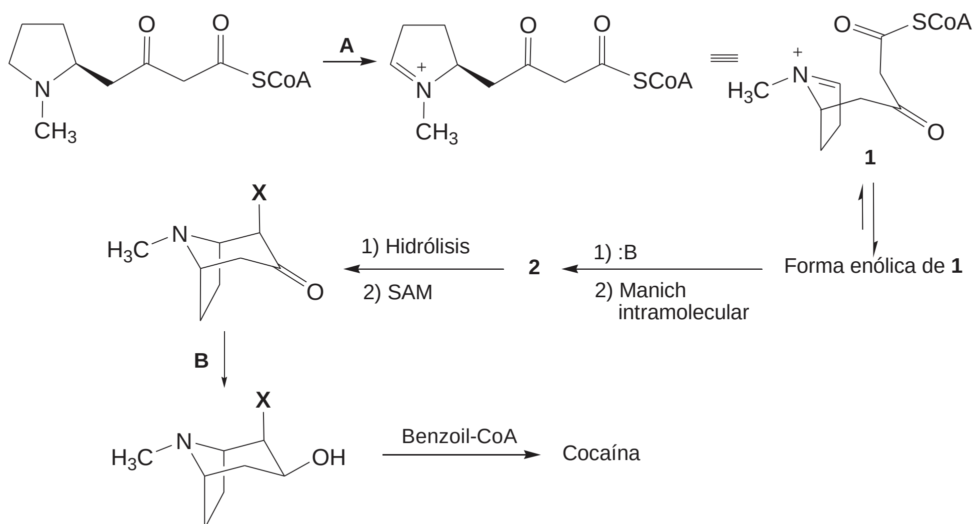
6. El aminoácido tirosina va a aportar a los alcaloides de su grupo el fragmento estructural Ar–C–C–N. Aquellos que solo contienen una unidad de dicho fragmento son los denominados alcaloides de 2-fenil-etilamina; los que además presentan átomos de carbono adicionales, procedentes del ácido pirúvico, son los clasificados como alcaloides isoquinolínicos; y, por último, cuando intervienen dos moléculas de tirosina se tienen los alcaloides de la familia de bencilisoquinolinas.

7. La (*S*)-reticulina es un intermedio clave en la biosíntesis de muchos alcaloides bencilisoquinolínicos complejos tales como los pertenecientes a la familia de los morfinanos.

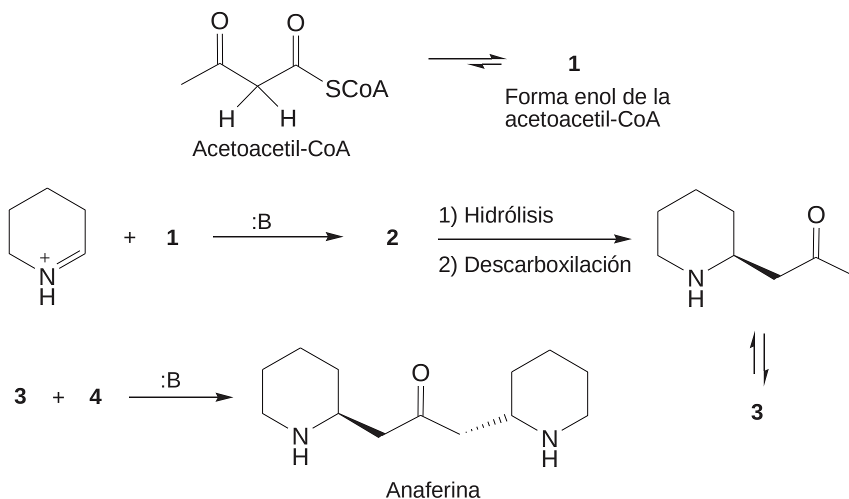
8. Los alcaloides que contienen el anillo heterocíclico de indol provienen del aminoácido triptófano y la práctica totalidad poseen una cadena alifática de origen terpénico.

EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

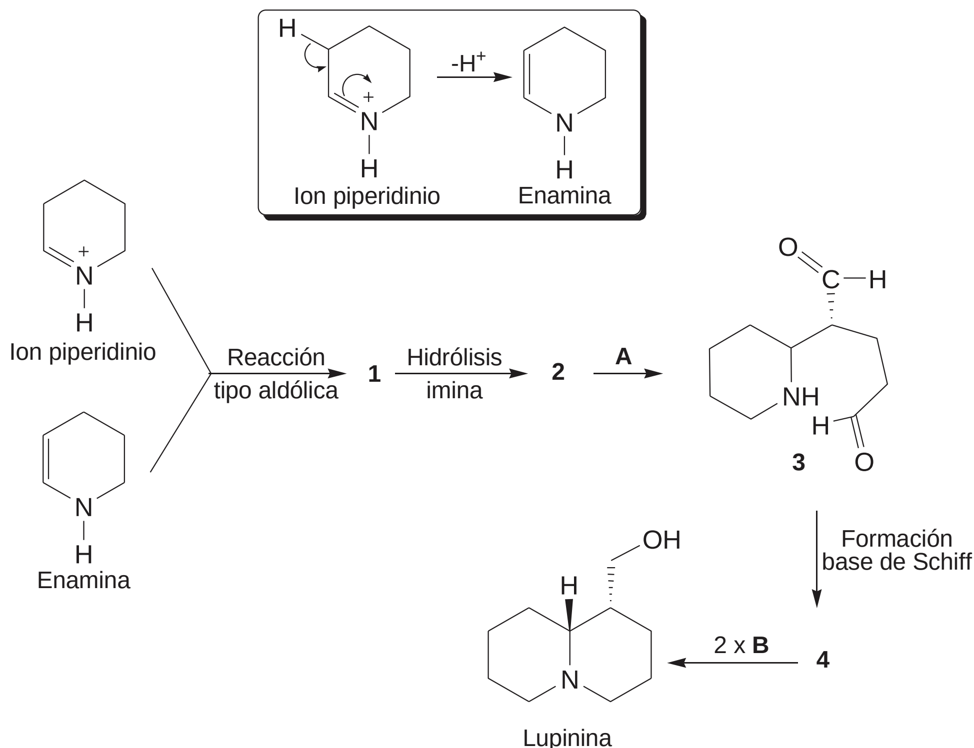
1. Escribir el mecanismo de descarboxilación del aminoácido ornitina para obtener el intermedio enamínico.
2. Entre los derivados tropánicos derivados de la ornitina se encuentra la cocaína. Completar el siguiente esquema que conduce a su biosíntesis.



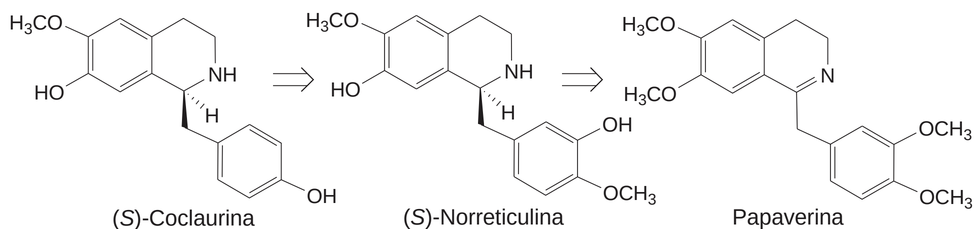
3. Completar el siguiente esquema biosintético que conduce a la biosíntesis de la anaferina:



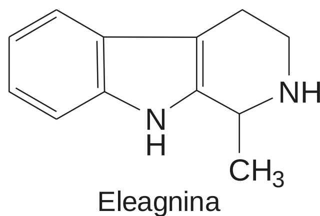
4. La biosíntesis del alcaloide quinolizidínico lupinina se inicia con dos moléculas del ion piperidinio, en la que una de ellas ha sido desprotonada dando lugar a la enamina. Completar el esquema de su biosíntesis.



5. Sabiendo que la papaverina se obtiene a partir de la (*S*)-norreticulina y ésta a partir de la (*S*)-coclaurina, indicar las etapas necesarias para su biosíntesis:



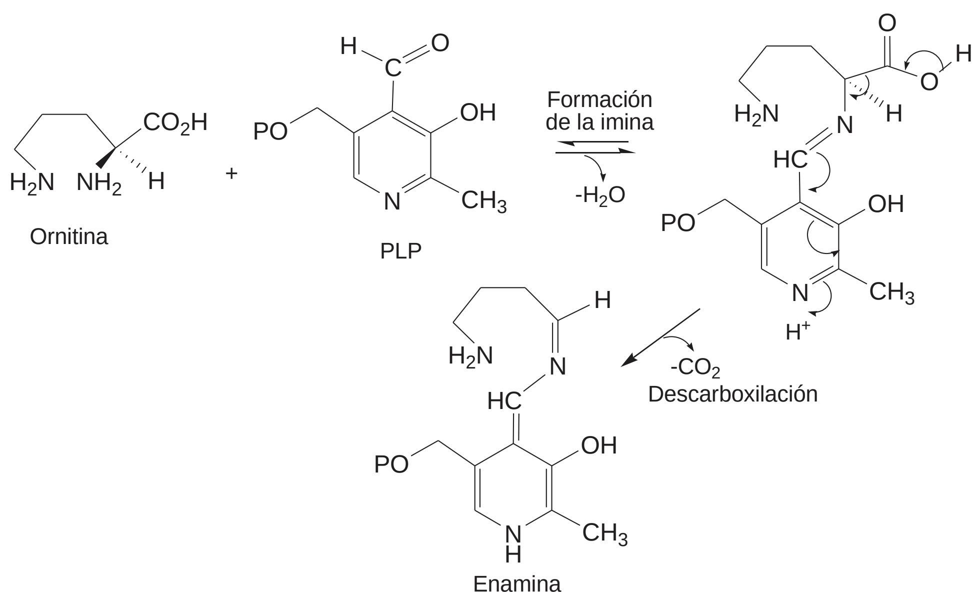
6. A partir de triptamina y acetaldehído, y siguiendo un mecanismo similar al mostrado en la Figura 10.21, describir el que tendría lugar para la formación del alcaloide de β-carbolina conocido como eleagnina.



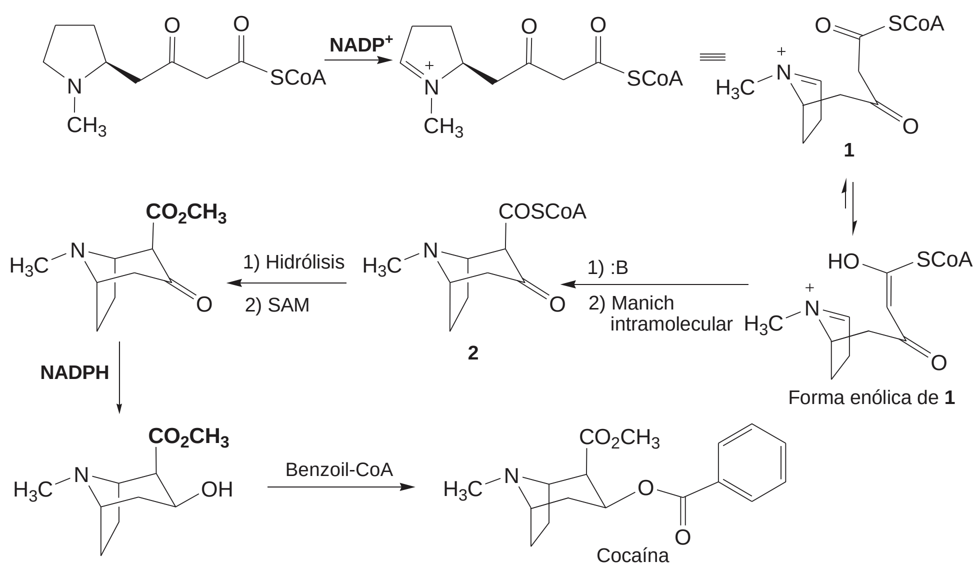
Eleagnina

SOLUCIONES A LOS EJERCICIOS DE AUTOCOMPROBACIÓN

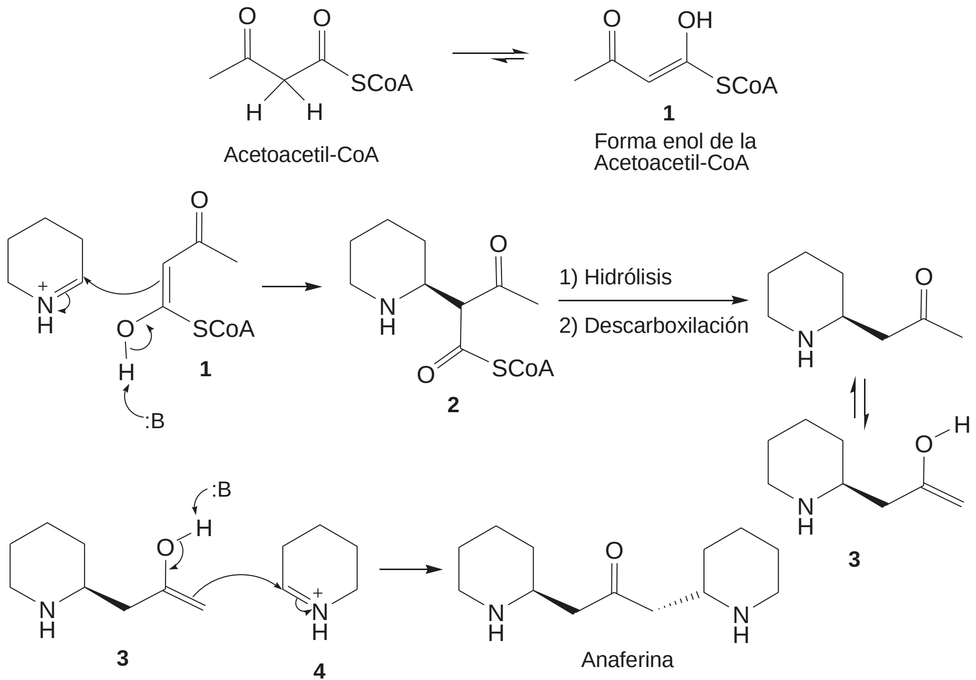
1.



2.

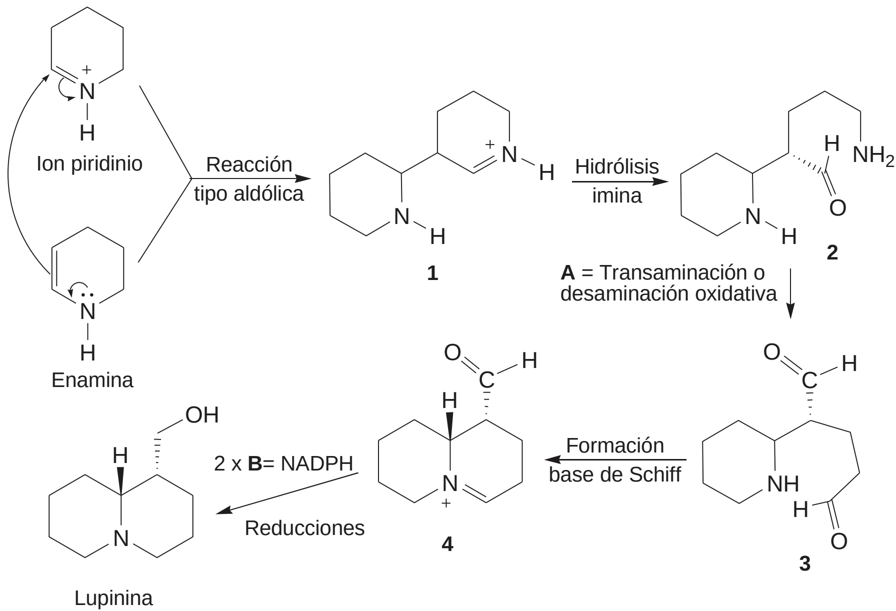


3.



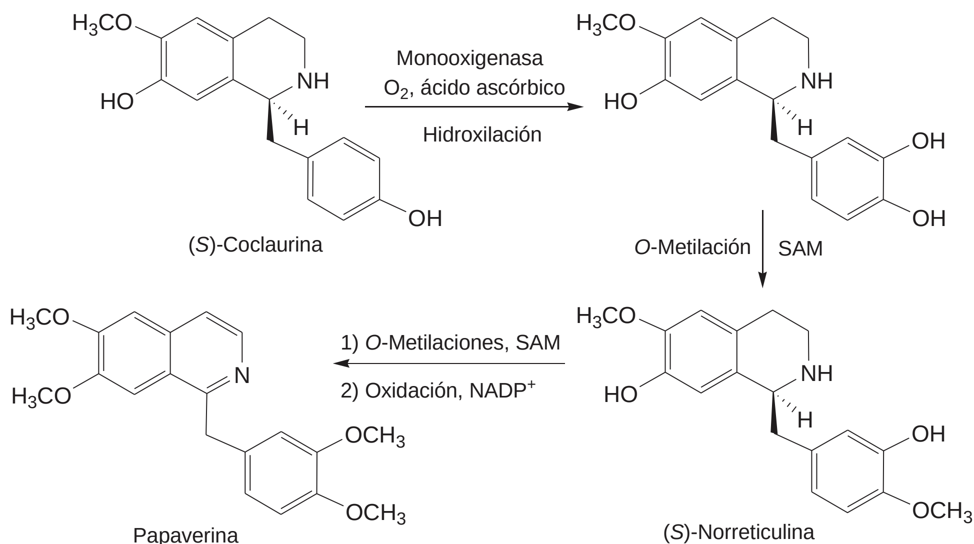
O
O
SCoA
H
H
Acetoacetil-CoA
O
OH
SCoA
1
Forma enol de la
Acetoacetil-CoA
N
H
O
SCoA
H
:B
1
O
N
H
O
O
SCoA
2
1) Hidrólisis
2) Descarboxilación
N
H
O
N
H
O
H
3
:B
H
O
N
H
3
N
H
4
N
H
O
N
H
Anaferina

4.

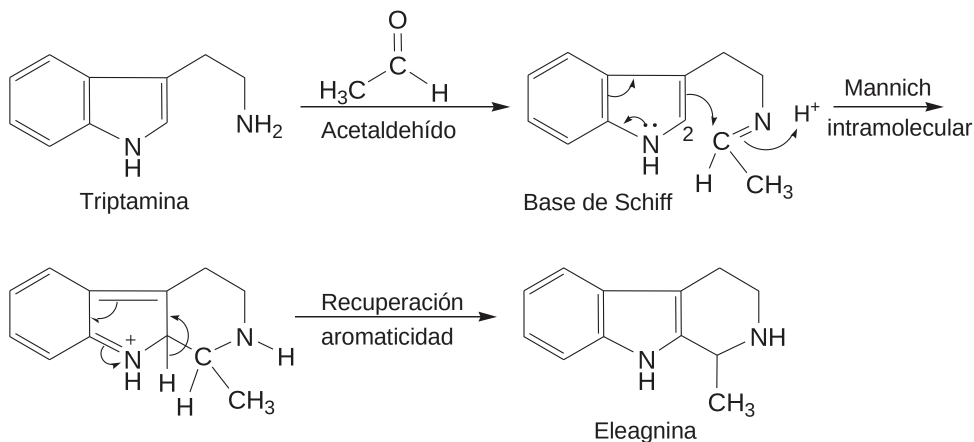


N
H
Ion piridinio
N
H
Enamina
Reacción
tipo aldólica
N
H
N
H
1
Hidrólisis
imina
N
H
H
NH2
O
2
A = Transaminación o
desaminación oxidativa
O
C
H
NH
H
O
3
Formación
base de Schiff
O
C
H
H
N
4
2 x B= NADPH
Reducciones
OH
H
N
Lupinina

5.



6.



La posición 2 del indol es nucleófila debido al átomo de nitrógeno adyacente y, por tanto, puede participar en una reacción tipo Mannich por ataque del carbono-2 al carbono de la imina. Posteriormente, para recuperar la aromaticidad del sistema indólico se produce la pérdida del protón del carbono-2.

ÍNDICE DE ALFABÉTICO DE TÉRMINOS

B

C

D

E

F

G

H

I

K

L

M

N

O

P

Q

R

S

T

U

V

W

X

Química Bioorgánica y Productos Naturales constituye el texto base para la asignatura del mismo nombre, que pertenece a la materia química orgánica del título de Grado en Química. Su objetivo general consiste en el estudio de las moléculas y las reacciones químicas que ocurren en los organismos vivos, de importancia fundamental para la comprensión del funcionamiento de estos últimos.

El programa de la asignatura Química Bioorgánica y Productos Naturales, de 5 créditos ECTS, está organizado en dos unidades didácticas, de cinco temas cada una. La primera está directamente relacionada con la química bioorgánica, y la segunda se centra en el estudio de los productos naturales que se presentan, de acuerdo con su origen biogenético, como metabolitos secundarios.

Las autoras son profesoras del Departamento de Química Orgánica y Bioorgánica de la Facultad de Ciencias de la UNED.

UNED Editorial

colección Grado



6103402GR01A01